

BIBLIOTHEEK
LEESMUSEUM
AMSTERDAM.

Afd.

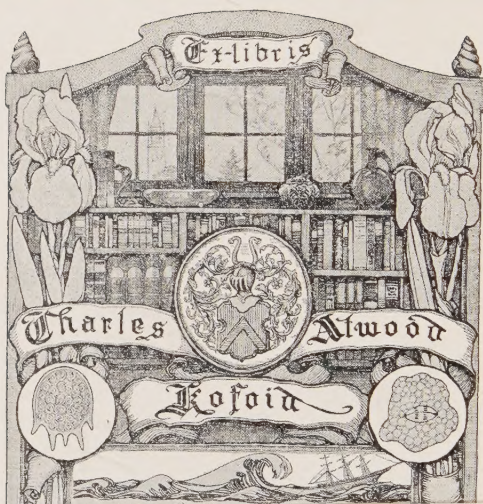
N^o

4874
THESIS, LEIDEN. 1912.

HET COLI-VACCIN.

A. PIJPER.





Gift of
Mr. William Wreden



40/4

LANE MEDICAL LIBRARY
STANFORD UNIVERSITY
300 LUTHER DRIVE
PALO ALTO, CALIF.

HET COLI-VACCIN.



HET COLI-VACCIN.

PROEFSCHRIFT

ter verkrijging van den graad van

DOCTOR IN DE GENEESKUNDE

AAN DE RIJKS-UNIVERSITEIT TE LEIDEN,

OP GEZAG VAN DEN RECTOR-MAGNIFICUS

DR. B. D. EERDMANS,

Hoogleeraar in de Faculteit der Godgeleerdheid,

VOOR DE FACULTEIT DER GENEESKUNDE

TE VERDEDIGEN

OP MAANDAG 7 OCTOBER 1912, DES NAMIDDAGS TE 4 UREN

DOOR

ADRIANUS PIJPER,

GEBOREN TE WONSERADEEL.

LEIDEN,

BATTELJEE & TERPSTRA.



Aan de Hoogleraren der Medische en der Philosophische Faculteit en aan den Oud-Hoogleeraar LANGELAAN betuig ik mijnen hartelijken dank, in het bijzonder aan mijnen hooggeschatten Promotor, den Hoogleeraar VAN CALCAR.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40154023_0017

HOOFDSTUK I.

De groote beteekenis, die de vaccinatie d. i. de actieve immunisatie langzamerhand begint te krijgen, is wel de oorzaak geweest, dat zoowel in kliniek als laboratorium voortdurend de aandacht op haar blijft gevestigd.

Toch is zij niet van den jongsten tijd.

Men moge in de geschiedenis der middeleeuwen reeds op verschillende plaatsen de vaccinatie tegen pokken beschreven vinden, toch blijft het JENNER's onsterfelijke verdienste aan de hand van scherpe klinische waarneming het eerst de koepokstof als het vaccin bij uitnemendheid tegen de pokken te hebben aangewezen. Hoewel in de praxis op groote schaal bij voortdurend toegepast, heeft men zich ook na JENNER's dood jaren en jaren lang weinig met het wezen der vaccinatie tegen de pokken bezig gehouden.

Eerst nadat vooral PASTEUR en na hem zoovele anderen de actieve vaccinatie bij andere infectieziekten hadden bestudeerd, heeft men ook het pokken-vaccin weer aan een nader onderzoek onderworpen, zooals bekend nog steeds met een negatief resultaat. Verkregen immuniteit door actieve vaccinatie is door PASTEUR het eerst waargenomen tegenover het microörganisme van de kippen-cholera, waarbij hem bleek, dat eenmaal geënte dieren, die de eerste enting waren te boven ge-

komen voor eene volgende dosis, ook al bedroeg die eenige malen de doodelijke, ongevoelig waren geworden. Maar bovenal heeft PASTEUR's genie geschitterd op het gebied van ziekten met nog steeds onbekende pathogenese, met name op dat van de lyssa. PASTEUR's onderzoekingen over het wezen van de lyssa zijn vooral daarom van belang, omdat zij een volkomen nieuw gebied voor wetenschappelijk onderzoek hebben geopend nl. de actieve immunisatie gedurende het incubatie-stadium.

Door deze onderzoekingen werd aangegeven, dat men de actieve immunisatie niet slechts kan laten dienen als prophylactischen maatregel, doch dat zij eveneens kan worden toegepast gedurende het incubatie-stadium, dat is het stadium, waarin de producten der ziekmakende kiemen hunne werking op voor ons nog onzichtbare wijze ontvouwen.

Toen men na deze scherpe definitie begon in te zien, dat er slechts een quantitatief verschil bestond tusschen het incubatie-stadium en het stadium van het voor ons waarneembaar ziek zijn, was de weg geopend voor de actief immunisatorische behandeling van sommige infectieziekten met name van die ziekten, welke zich klinisch in den regel als van chronischen aard demonstreeren.

Maar nog in ander opzicht zijn PASTEUR's fundamentele onderzoekingen omtrent het wezen der lyssa voor de geheele actieve vaccinatie van groote beteekenis geweest. In de eerste plaats heeft PASTEUR het zieke weefsel, hier dat van het centrale zenuwstelsel, als het vaccin aangewezen tegenover die ziekten, waarvan ons de pathogene kiem onbekend is of waarbij wij althans deze kiem niet in reinen toestand kunnen verkrijgen.

Maar bovendien zijn deze onderzoekingen van zoo

groot belang, omdat zij ten eerste aangeven, dat voorafgaande enting met een verzwakt vaccin ongevoeligheid geeft tegenover de enting met het onverzwakte, en ten tweede omdat ook thans nog steeds als betrouwbaar geldende methoden werden aangegeven ter bereiding van verzwakte vaccins en hoe men deze moet aanwenden om ten slotte eene enting met eene groote dosis onverzwakt vaccin, die gelijkwaardig mag worden gerekend met de natuurlijke infectie, symptoomloos te doen verlopen.

PASTEUR's onderzoeken zijn de basis geworden van het leerstuk der organotropie en van hare praktische klinische aanwending.

Bij sommige ziekten zijn de voorwaarden voor de actieve immunisatie zeer eenvoudig. Wij weten, dat bij sommige ziekten, de exquisiet toxische, waarvan de tetanus het prototype voorstelt, de actieve immunisatie eene zeer eenvoudige is. Vooral hierom is deze immunisatie zoo eenvoudig, omdat bijna alle ziekteverschijnselen worden veroorzaakt door èèn en dezelfde stof, nl. het toxine, terwijl alle andere direct of indirect van de infecteerende microben afkomstige producten eene ondergeschikte rol spelen. De immunisatie is echter langs actieven weg hier slechts mogelijk in het dierexperiment, aangezien het klinische ziektebeeld der toxische ziekten van zoo acuten aard is en bovendien het incubatie-stadium of zeer kort is, of wat zijne lengte betreft niet zoo nauwkeurig kan worden aangegeven, dat van eenige analogie met de wel voor actieve vaccinatie geschikte ziekten, met name de lyssa, sprake kan zijn.

Verkeerde appreciatie van het wezen der actieve vaccinatie, vooral het maken van verkeerde gevolg-

trekkingen, zijn de oorzaak geweest, dat inderdaad goede methoden zich langzamerhand klinisch hebben gediscriteerd en voor korten of langen tijd in onbruik zijn geraakt, tot schade van den behandelenden geneesheer, tot schade bovenal van de te behandelen patiënten. De totale mislukking der eerste tuberculine-aera, de twijfelachtige reputatie, welke de tuberculine-therapie nog bij verscheidene klinici bezit, demonstreeren zulks op afdoende wijze.

Meer dan vroeger is men thans van het nut der actieve vaccinatie voor de medische praxis overtuigd. Thans, nu men weet hoe verschillende factoren, die men vroeger even regelmatig buiten beschouwing liet als men er tegenwoordig op let, van buitengemeen belang zijn voor het welslagen eener actieve immunisatie met therapeutisch doel.

Het is vooral WRIGHT's verdienste op verschillende dezer factoren te hebben gewezen en hunne klinische aanwending te hebben bepleit. WRIGHT heeft zich met het actief immuniseeren tegenover verschillende ziekten bezig gehouden. Prophylaktisch vooral tegenover typhus en cholera en vooral daar, waar zooals in oorlogstoestand groote mensenmassa's plotseling aan eene algemeene infectie kunnen worden blootgesteld. Curatief is de actieve immunisatie door WRIGHT vooral daar aanbevolen, waar het ziektebeeld, zooals dat bijv. door tuberkelbacillen, staphylokokken en coli-bacillen wordt veroorzaakt, vanaf den aanvang in de eerste plaats een chronisch verloop heeft, en in de tweede plaats weinig neiging tot spontane genezing vertoont.

Onder een nieuwen naam zijn door WRIGHT oude begrippen in de kliniek weer ingevoerd.

WRIGHT heeft het begrip der negatieve en positieve phase in de praxis gebracht en aangegeven, hoe men met deze gegevens zal hebben rekening te houden, wil men de actieve vaccinatie op doelmatige wijze volvoeren.

Een organisme, dat gevaccineerd is met eene zij het dan ook niet groote dosis, is gedurende korteren of langeren tijd minderwaardig. Gedurende dat tijdperk kan eene nieuwe toediening van gift tweeërlei uitwerking hebben: òf het kan het betrokken individu te gronde richten, òf het kan dit, zooals WRIGHT het uitdrukt, zóó diep in de negatieve phase brengen, dat het nooit meer in de positieve kan overgaan. Dit zal duidelijk worden, als men weet, dat de positieve phase begint met de vrije secretie der op de eerste injectie gevormde antilichamen. In dit stadium heeft eene nieuwe toediening van het vaccin hoogere verplaatsing in de positieve phase ten gevolge, d. w. z. eene nog grootere vorming van vrije antilichamen. Voor den biologisch geschoolde zal het duidelijk zijn, dat deze WRIGHT'sche fasenleer niets anders is dan de praktische consequentie van het begrip der cumulatieve giftwerking, zooals dat het eerst door VON BEHRING in de praxis is ingevoerd.

Hebben wij boven reeds in het kort aangegeven, waarom acuut toxische ziekten voor actieve immunisatie ontoegankelijk zijn, ook WRIGHT en andere therapeuten maken van al of niet verzwakte toxinen als vaccin geen gebruik. De voor de actieve vaccinatie gebruikte entstoffen zijn òf de gedoode oorzakelijke microörganismen òf uit hen door verschillende kunstgrepen verkregene proteïne-stoffen. Al deze proteïne-stoffen, direct of indirect van de microörganismen afkomstig, geven aanleiding tot het optreden van antilichamen, die het amboceptor-

karakter dragen. En weer is het WRIGHT's verdienste geweest na de inleidende onderzoekingen van METCHNIKOFF en EHRLICH en vooral ook van DENYS en LECLEF, er nog eens op gewezen te hebben, dat deze stoffen, in samenwerking met het complement, de oorzakelijke kiemen slechts bij uitzondering tot oplossing brengen, maar deze in den regel geschikt maken voor de phagocytose. Samen geven amboceptor en complement de opsonische werking.

Niet alleen de vraag, op welke wijze moet men immuniseeren, en in welke hoeveelheid en op welk tijdstip moet men de eerste en volgende injecties van een vaccin verrichten — doet zich in de praxis voor. Alvorens zich deze vraag te stellen zal men zich eerst afvragen, welke patiënten wel en welke niet voor de immunisatie langs actieven weg geschikt zijn. Ook deze quaestie kan men aan de hand van experimenteetele laboratorium-onderzoekingen duidelijk maken. Allereerst door NEISSER en WECHSBERG (1) is er op opmerkzaam gemaakt dat er eene zekere verhouding moet bestaan tusschen de hoeveelheid amboceptor en de beschikbare hoeveelheid complement. Neemt men eene constante hoeveelheid complement en laat men dan bij eene eveneens constante dosis op te lossen materiaal de concentratie van den amboceptor stijgen, dan ziet men dat boven eene zekere concentratie de lysis minder duidelijk wordt om ten slotte geheel op te houden. Nu weet men, dat de actieve vaccinatie in het dierlijk, zoowel als in het menschelijk organisme, slechts de amboceptor-concentratie doet stijgen, op de complement-concentratie echter geen invloed kan uitoefenen.

Er zijn ziekten, en als voorbeeld kan de diabetes

genoemd worden, die eenerzijds gekarakteriseerd zijn door hunne voorbeschikking tot bacteriële infecties, met name staphylokokken-infecties, en anderzijds een ten opzichte van een normaal organisme verminderd complement-gehalte veroorzaken. Vermeedert men in zulke gevallen door eene actieve vaccinatie met staphylokokken-vaccin den amboceptor, dan zal hier in vivo de wanverhouding ontstaan, of zoo men wil, nog grooter worden dan zooals die zich in het laboratorium-experiment van NEISSER en WECHSBERG in vitro demonstreert. Waar van klinisch standpunt dringend de vraag rijst, of de praedispositie voor kokkeninfecties van den diabeticus niet op de bovenbeschreven wanverhouding berust, daar zal men van immunisatoir standpunt paradox handelen door deze wanverhouding door eene ondoelmatige vaccinatie nog grooter te maken.

Thans zal het duidelijk zijn, dat men niet alleen bij diabetes maar ook bij zoovele andere chronische ziekten zich in de eerste plaats zal hebben af te vragen, of men met de actieve vaccinatie eene verhooging van den opsonischen index beoogt en zoo ja, of in de tweede plaats het complementgehalte van het serum met die verhooging in overeenstemming zal kunnen blijven.

Tot de infectieuze aandoeningen, waar tegenwoordig de vaccine-therapie haar aandacht op heeft gericht, behooren de door het bacterium coli commune veroorzaakte chronische ontstekingen van de galblaas met hare toe- en afvoerwegen, en de overeenkomstige ziekten van de urine-organen.

Daarbij doet zich eene nieuwe vraag voor. Het bacterium coli is een constante bewoner van het darmkanaal en al mag de beteekenis van de daardoor geschapen

betrekking tusschen dit microörganisme en den mensch niet in allen deele bekend zijn, die eenmaal bestaande en toch vrij nauwe relatie zal bij het overwegen van de quaestie, of eene vaccinatie nut kan stichten, een niet te verwaarloozen factor zijn. Eene vaccinatie gericht tegen het bacterium coli commune, waar dit als pathoögeen organisme optreedt, zou haar doel voorbij kunnen streven en de betrekking verstoren, die zoolang, met welk nuttig effect dan ook, gehandhaafd was geworden.

De eerste mededeeling van eene veranderde verhouding tusschen het bacterium coli commune en een daartegen geïmmuniseerd dier is van prof. POELS (2), die in de faeces van paarden, bij welke verschillende coli-stammen waren ingespoten, het aantal coli-bacillen sterk zag afnemen.

Naar aanleiding van deze vondst heeft DUYSSENS (3) onder leiding van prof. POELS het onderzoek over meerdere dieren uitgebreid. Hij spoot schapen, geiten, konijnen, varkens en runderen in met hun eigen bacterium coli en onderzocht van de aldus behandelde dieren dagelijks 2 mgr. faeces op het aantal coli-bacteriën. De uitkomsten zijn even verrassend als constant. Geregeld volgt op eene aanvankelijk vermeerderde uitscheiding eene gelijkmatige afname van deze bacteriën, soms tot verdwijns toe. Eene enkele sectie van een gestorven dier toonde ook eene vermindering van coli-bacteriën in den darm aan. Jammer is slechts, dat van den aard en de quantiteit der uitgescheiden faeces geen vermelding wordt gedaan, daardoor verliezen de cijfers in waarde. Immers dat het aantal faecesbacteriën wisselt met den aard der faeces, dat het bij diarrhee sterk kan afnemen of verdwijnen, is door FEIGEN (4), BOOKER (5),

en SCHÖNENBORN (6) vastgesteld en DUYSSENS noemt hier en daar darmsymptomen als een der reactie-verschijnselen door de injecties opgewekt. Het blijft nu mogelijk die verandering in het aantal bacteriën in de faeces op rekening te zetten van de diarrhee, die als gevolg der injecties optrad; al is het ook waarschijnlijker, dat de diarrhee in deze gevallen juist het gevolg was van het verdwijnen der natuurlijke darmflora.

Jammer is ook, dat DUYSSENS nooit het bloed der geïmmuniseerde dieren onderzocht en daardoor geen voorstelling had van den bereikten immuniteitsgraad. Verwonderlijk is ook, dat geen der proefdieren zich refractair betoonde, d. w. z. weigerde te voldoen aan de verwachtingen, die na de injecties aan het dier werden gesteld. Bij onze onderzoeken kwam dat meer dan eens voor.

Eene waarneming gelijkend op die van Prof. POELS en DUYSSENS deed nog VOORHOEVE (7). Hij zegt „bij konijnen, die tegen sommige coli-stammen werden geïmmuniseerd, verdwijnt de eigen stam uit de faeces.” In deze experimenteele feiten ligt de bijzondere moeilijkheid, die eene vaccinatie met bacterium coli commune oplevert. Hoe men verder ook over de beteekenis der coli-flora van den darm moge oordeelen, als injectie van colibacteriën het effect heeft, dat de darmflora verandert, is dit zeker een verschijnsel, dat ernstige overweging verdient.

Dit effect lijkt ons ook belangrijker dan wat FINIZIO (8) als nevenwerking van niet-letale doses coli-bacteriën opmerkte: eene vermeerderde eiwitafbraak, waardoor de stikstofbalans niet op te houden was, en ook belangrijker dan GIURRANA's (9) bevinding, dat coli-bacteriën eene organotropie voor het hart vertoonen en steeds myocarditis veroorzaken. Wel zullen beide verschijnselen den

dood van menig proefdier hebben verhaast, en dat zoovele konijnen niet bestand waren tegen eene herhaalde injectie met coli-bacteriën naast de lange hongerkuur, die wij hen lieten ondergaan, is zeker wel daaraan toe te schrijven.

Voor nu de resultaten der door ons genomen proeven worden medegedeeld is eene bespreking van de betekenis der darmflora op hare plaats.

Er was een tijd, dat men alle bacteriën, die uit faeces gekweekt konden worden, tot de darmflora rekende. Door telkens andere voedingsbodems aan te wenden, werden de reeds bekende bacterie-soorten vermeden en voortdurend werd de reeks uitgebreid. De moeilijkheid was altijd het ontgaan van de coli-bacteriën, die de overgrootste meerderheid vormden en overal op, en alles overgroeiden. Eigenaardig is, dat BIENSTOCK (10), de eerste die zulke onderzoekingen deed, juist de coli-bacteriën niet gevonden heeft. Hij entte alleen de oppervlakkige kolonies van zijne platen over en verwaarloosde de andere. Uit den nieuweren tijd moet in dit verband MATZUSCHITA (11) worden genoemd, die met allerlei hulpmiddelen 44 soorten bacteriën uit mensche lijke faeces wist te isoleeren. MANNABERG (12) kende er al 27 en dat nog wel met uitsluiting van alles, wat alleen anaëroob groeide.

De gevonden bacteriën werden dan op hunne functiën onderzocht en er werd verondersteld, dat die eigenschappen eene rol zouden spelen bij intestinale processen. De eerste, die den faecesbacteriën betekenis toekende voor de spijsvertering, was Duclaux (13).

Later is men dit anders gaan inzien. Men begreep, dat vele der zoogenaamde darmbacteriën slechts toe-

vallig in de faeces aanwezig waren, en dat het belangrijker was om op de constant aanwezige te letten dan zich toe te leggen op het vinden van telkens nieuwe soorten. Zoo kregen de woorden „facultatief” en „obligaat” eene nieuwe beteekenis. ESCHERICH had deze betitelingen ingevoerd bij zijne onderzoekingen over zuigelingsbacteriën. Hij achtte het bacterium coli commune en lactis aërogenes, die hij bij zuigelingen vond, noodig voor de melkvertering en hunne overige bacteriën niet, de eerste beide waren dus obligate, de andere facultatieve micro-organismen. De woorden zijn gebleven, de zin werd een andere. Geheel vastgesteld is de beteekenis wel niet, en niet alle onderzoekers stellen dezelfde eischen, vóór zij eene bacterie een der praedicaten toekennen, maar wat ESCHERICH er mee bedoelde, geldt tegenwoordig toch niet meer.

In het algemeen mag men eene darmbacterie „obligaat” noemen, als zij blijft vegeteeren zonder van buiten te worden aangevoerd. De darm duldt haar, heeft haar misschien noodig, en zij van haar kant heeft zich aan de toestanden in den darm aangepast. Langdurig hongeren is dus een geschikt middel om alleen deze bacteriën over te houden. Deze definitie sluit niet in zich, dat ze ook dan nog in den darm groeien. Mogelijk is natuurlijk ook, dat zij er zich dan slechts met moeite in staande houden zonder zich te vermeerderen; SARTORY en MAHEN (14) hebben voor het bacterium coli, een der obligate, aangetoond, dat men die in eene gesloten flesch 16 jaar levend kan houden; groei is daarin natuurlijk spoedig onmogelijk geworden.

Steriele voeding is een ander middel om alleen de obligate over te houden, maar de uitwerking hiervan

is volgens VOORHOEVE (7) niet meer dan een „tendens tot het obligate florabeeld.” Van andere zijden komen berichten van nog minder succes. BELONOWSKY (15) voerde muizen met gesteriliseerd graan en gesteriliseerde melk gedurende 7 maanden. Al dien tijd kon hij per mgr. faeces 1.630 000 koloniën kweeken. De onderlinge quantitative verhouding van gasvormers, Gram-positieven en Gram-negatieven, en gelatine-vervloeiers bleef steeds gelijk. BROTZU (16) vindt bij honden, die alleen gekookt voedsel kregen, minder bacteriën dan anders. HAMMERL (17) vond er daarentegen meer. Het zekerste middel om uit te maken, welke bacteriën obligaat zijn, blijft dus wel de voedselonthouding. Toevoer van gesteriliseerd materiaal geeft ook den toevallig aanwezigen microörganismen nog eene te goede gelegenheid zich voort te planten. Intusschen, wanneer wij onze eischen minder hoog stellen, kunnen wij ook nog wel op eenvoudiger wijze tot het vaststellen van obligate darmbacteriën komen. Wij gaan dan slechts na, welke bacteriën constant in den darm of zelfs in de faeces gevonden worden. En dan treft ons dadelijk de groote overeenstemming omtrent het bacterium coli commune. De standvastigheid, waarmede deze bacterie steeds en overal in den darm teruggevonden wordt, bewijst wel dat er eene betrekking tusschen haar en den darm bestaat. Het bacterium coli komt voor bij alle huisdieren [MOORE en WRIGHT (18)], bij runderen [HÜTTEMAN (19), ANKERSMIT (20)], bij varkens [HEINICK (21)], bij kippen [RAHNER (22), JOEST (23)], bij de veldmuis [HOPFFE (24)], bij visschen, mosselen, kreeften, garnalen [HOUSTON (25)], bij de huisvlieg [TORREY (26), NICOLL (27)] en de reeks zou nog gemakkelijk uitgebreid kunnen worden. Dit zou reeds voldoende grond zijn om

het eene obligate darmbacterie te noemen. Intusschen heeft VOORHOEVE (7) het bewijs op afdoende wijze geleverd door konijnen langen tijd te laten hongeren. Na 12 dagen vond hij in den heelen darm slechts coli-bacteriën en mikrokokken. Na 14 dagen waren in hoofdzaak slechts coli-bacteriën aanwezig.

Dan gaan de coli-bacteriën weer aan het afnemen en krijgen de microkokken de overhand. De enge relatie tusschen deze vertegenwoordigers der microörganismenwereld en den darm wordt nog nader geïllustreerd door het feit, dat beide huizen in de slijmlaag, die het darmepitheel bedekt; uit een schoongespoelden darm is altijd nog coli te kweken. [CUSHING en LIVINGGOOD (28)].

Verrassend was het bericht van LEVIN (29), die tijdens eene Noordpoolexpeditie verschillende pooldieren op darmbacteriën had onderzocht en die niet had gevonden. Van 480 dieren, die tot 53 speciës behoorden, waren er 288 steriel. En bij 75%₀ vond hij geen coli. Hij wist de vondst aannemelijk te maken door van proeven te berichten, die hij genomen had om den bacterie-rijkdom van lucht en water in die noordelijke streken te bepalen en waaruit gebleken was, dat bacteriën daar buitengewoon zeldzaam voorkwamen. De verbazing duurde echter maar kort. De beweringen van LEVIN zijn spoedig weerlegd in eene particuliere mededeeling aan BIENSTOCK, door CHEAUVEAU (30), die eene dergelijke expeditie had medegemaakt. Verder zijn LEVIN's ontdekkingen ontkend door RACOVITZA en CANTACUZERE (31), en ten slotte nog door CHARCOT (32). Wij kunnen dus veilig aannemen, dat het bacterium coli in geen enkelen darm ontbreekt. Het groeit ook het beste bij 37°, al blijft het zulks doen tusschen 10° en 49° [BARBER (33).] En 45%₀

der menschen heeft zelfs kweekbare coli-bacteriën in de mondholte [GILBERT en CHOQUET (34).]

Eene andere vraag is, waarom het bacterium coli eene obligate darm-bacterie is. FERMI (35) lost de quaestie niet op door te zeggen, dat de darmcellen den groei ervan bevorderen en dien van andere bacteriën verhinderen. Dat is natuurlijk geen redeneering, die een stap verder brengt. Hij noemt dan de andere hypothesen op, die in 't kort hierop neerkomen:

1. de darm, vol met coli-bacteriën, heeft geen plaats meer voor andere.

2. de zuigeling vindt om zich heen coli-bacteriën in overgroote meerderheid.

3. bacterium coli kan het best tegen maagzuur.

4. bacterium coli produceert bactericide stoffen voor andere bacteriën.

5. de darminhoud begunstigt den groei van coli-bacteriën het meest.

Voor wij ons een oordeel zullen kunnen vormen omtrent de beteekenis van de coli-bacteriën voor den darm en zijne functies zullen we ons eerst op de hoogte moeten stellen van het aantal bacteriën en van de verspreiding over de verschillende darmgedeelten. Over deze beide punten heerscht minder eenstemmigheid dan over het feit, dat coli-bacteriën in iederen darm voorkomen.

Pasgeborenen hebben een sterielen darm, dat zal niemand verwonderen. Maar al heel spoedig begint de invasie van bacteriën. SCHILD (36) deed hierover bij een groot aantal zuigelingen onderzoekingen, zoowel van den darm als van de faeces. De invasie begint 4 tot 22 uren na de geboorte. Omdat er gewoonlijk al bacteriën

in het rectum waren vóór de eerste voeding, nam hij ook een indringen per anum aan. Afsluiten van den anus met een steriel kussen bewees de juistheid van deze opvatting. Coli-bacteriën vond hij nooit voor het 20^e uur, en hij kon met vrij groote zekerheid aantonen, dat die per os binnenkwamen. Hun oorsprong zocht hij in de lucht, want in vagina of badwater waren ze niet te vinden,

Pas den tweeden dag werd de darmflora typisch, daarvóór was het beeld wisselend. TISSIER (37) noemt de zuigelingendarmflora drie dagen lang atypisch, hij vindt dan: bacterium coli, kokken, bacillus perfringens, coecobacillus perfaetens, bacillus lactis aërogenes. Dan treedt een nieuwe bacterie op, nl. de bacillus bifidus, die al de andere haast verdringt, zoodat we overhouden bacterium coli, lactis aërogenes en enterococcus Thiercelin. Koemelkvoeding laat meer der oorspronkelijke bacteriën over dan moedermelk. Deze uitkomsten stemmen overeen met die van SITTLER (38), die in den dundarm hoofdzakelijk den enterococcus en in de tweede plaats lactis aërogenes en coli vindt, en in den dikkarm het meest den bacillus bifidus. HELLSTRÖM (39) is het in hoofdzaak met TISSIER eens, ook wat den termijn betreft, binnen welke de verhoudingen constant worden. MORO (40) noemt zonder tijdsbepaling in den zuigelingendundarm bacterium coli en lactis aërogenes, in den dikkarm bacillus bifidus constant. ESCHERICH (41) kende in 1886 al het bacterium coli en lactis aërogenes als voornaamste bewoners van den zuigelingendarm. Later noemde hij den bacillus bifidus daar nog bij. Voor de dierenwereld sluit zich hierbij aan de mededeeling van RAHNER (22), dat bij kuikens de eerst optredende weer de coli-bacterie is.

De quantitative bacterie-bepalingen in faeces loopen sterk uiteen, zoowel bij menschen als bij dieren. Dit moet verklaard worden uit wel degelijk van geval tot geval bestaande verschillen, maar ook uit afwijkende telmethoden. Van de direct getelde bacteriën is altijd maar een klein gedeelte in staat tot groei, volgens KLEIN (42) is dat 1%, volgens EBERLE (43) 4,5%, als men op gelatine, en 10,6%, als men op agar uitzaait; volgens MAC NEAL, WARD, LATZER en KERR (44) bedraagt het maar $\frac{1}{6}$ %. Het is duidelijk, dat deze tellingen geen groote waarde kunnen bezitten. Evenmin betrouwbaar zijn de berekeningen, welk gedeelte van de dagelijks uitgescheiden faeces op rekening van bacterie-lijven komt. STRASSBURGER (45) meent, dat het $\frac{1}{3}$ is, KLEIN (42) echter beweert, dat het maar 0,13% zou zijn; FRIEDENWALDT en LEITZ (46) komen tot 8,2—22,3%; SATO (47), die in dit opzicht Europeeschen kost met Japanschen vergeleek, vond voor den eersten 16—30% en voor den laatsten 24%. Betere overeenstemming heerscht wat betreft de soort der gevonden bacteriën, dan staat bacterium coli overal bovenaan.

Omtrent de verspreiding van bacterium coli over den darm loopen de meeningen weer ver uiteen. Eene uiterste plaats neemt KOHLBRUGGE (48) in, die het begrip „autosterilisatie van den dundarm” invoerde. Hij verklaart deze functie niet nader. Hij beweert bij volwassen dieren in den dundarm nooit bacterium coli gevonden te hebben, behalve bij kippen, tenminste als deze daar tegelijkertijd spoelwormen herbergden (49). Die verhinderden dan de autosterilisatie. Hij bedoelt niet, dat alle ingesta gesteriliseerd worden, daarvoor is noch tijd noch gelegenheid,

maar de leege dundarm is volgens hem steriel (48). Die sterilisatie is eene levensfunctie, want het vocht in den leegen dundarm doodt of verlamt in den hangenden druppel bacteriën volstrekt niet, is zelfs een goede voedingsbodem (50). Hij stelt zich voor, dat de coli-bacteriën haar asyl hebben in coecum en processus vermiformis en van daar uit zich telkens weer in den overigen darm verspreiden, terwijl haar dat in den dikdarm alleen goed gelukt, al worden zij daar dan ook tegengewerkt door de rottingsbacteriën (48). Ondanks deze opvattingen eindigt hij toch eene zijner publicaties met te constateeren, dat de dundarm of geen eigen bacteriën heeft of slechts coli-bacteriën (49).

Overeenkomstige mededeelingen zijn afkomstig van ROLLY en LIEBERMEISTER (51). Zij vonden in den leegen konijnendundarm alleen bacteriën, als ze een „Anreicherungsverfahren” toepasten. Zelfs wanneer zij afgebonden darmlissen, waarin bacteriën waren gebracht, in de buikholte van het dier bewaarden, werden die bacteriën gedood of tenminste in haar groei geremd.

Maar dit zijn dan ook de eenige publicaties die dezelfde verre strekking hebben als die van KOHLBRUGGE. Alle andere schrijvers denken er anders over. Wel kan niet ontkend worden, dat er een groot onderscheid bestaat tusschen den bacterierijkdom van dun- en dikdarm, en dat er momenten zijn, die de bacteriën uit den dundarm verwijderen, kan niet worden geloochend, maar de absolute steriliteit, die KOHLBRUGGE wil gehandhaafd zien, bestaat niet. VOORHOEVE (7) vindt, zij het soms weinig, toch altijd goed groeiende bacteriën in den leegen dundarm van het konijn. Hij vindt pas aan het einde van den dundarm een hoog percentage coli-bacteriën (20—60 %),

dat dan in coecum en appendix klimt tot 70—90 %; in het colon is het weer 80—90 % en in het rectum 90—95 %. Zoowel hij als KLEIN (52, 53, 54) berekenen dat, wanneer wij de chymusvermindering en de indrooging in aanmerking nemen, het aantal bacteriën in den konijnendarm naar beneden toe afneemt. Dit bewijst echter, aangezien wij de voedingsvoorwaarden der facultatieve niet kennen, en wij deze hierbij niet afscheiden van de obligate, niet, dat wij hier met eene bactericide werking van den darm te doen hebben. Het kan evengoed een afsterven zijn uit voedselgebrek, of een omkomen in eigen stofwisselingsproducten. Dat eene dergelijke schadelijke werking wel bestaat, volgt intusschen uit de telkens herhaalde vondst, dat de dundarm zoo arm is aan bacteriën, terwijl darmsap een goede voedingsbodem is voor bacteriën. Zoo vindt JUNDALL (55) den leegen dundarm bij den mensch vaak bijna steriel. EIJKMAN (56) erkent, dat de menschelijke darm overal bacteriën bevat, CUSHING en LIVINGGOOD (28) vinden in den leegen dundarm bij den mensch coli-bacteriën. Uit ileumfistels van menschen zijn coli-bacteriën gekweekt [CIECHOMSKI en JAKOWSKI (57).] TISSIER (58) vond in den dundarm van een 5-jarig kind coli-bacteriën, HIROKAWA (59) vond die in 79 gevallen 8 keer in de gal, HARTMANN (60) vindt gewoonlijk den ductus choledochus geïnfecteerd met bacterium coli, LIPPMANN (61) zegt, dat zij in de galgangen steeds aanwezig zijn. ANKERSMIT (20) noemt de bacteriën bij het rund spaarzaam, maar kan toch overal coli-bacteriën vinden, JOEST (23) beweert hetzelfde van de kip, BISANTI (62) komt betreffende honden tot dezelfde conclusie. DALLEMAGNE (63) constateert, dat elk darmdeel zijne eigene, vaste bewoners

heeft en de bewerker van het hoofdstuk over darmbacteriën uit zich in het handboek van KOLLE en HETSCH (64) aldus: „Unbestritten ist wohl die Tatsache dasz den Bakterien im normalen Darm, vor allen Dingen auch in dessen unteren Abschnitten, eine ganz besondere physiologische Aufgabe zufällt.”

In het voorafgaande is de constante aanwezigheid van het bacterium coli naast andere bacteriën in den normalen dun- en dikdarm voldoende bewezen. Wij kunnen dus nu overgaan tot de bespreking van de beteekenis, die de bacterieflora van den darm heeft voor de daarin plaatsgrijpende processen.

Het was een van PASTEUR's bekende „*idées préconçues*”, waardoor hij kwam tot de uitspraak, dat zonder darmbacteriën het leven der hogere dieren onmogelijk zou zijn. Bewijzen voor die stelling ontbraken toen nog geheel. Wel had MILLER al verband gezocht tusschen darmprocessen en darmbacteriën en waren er bacterieele omzettingen bekend, die met die in den darm overeenkwamen, maar voor de stelligheid, waarmede PASTEUR zich uitliet, was nog geen bewijs voorhanden.

Beroemd zijn geworden de schoone proeven van SCHOTTELIUS. (65) Deze onderzoeker wilde de onmogelijkheid van het leven zonder darmbacteriën aantoonen. Hij nam daartoe het idee, door PASTEUR voorgeslagen, over, en legde zich toe op het verkrijgen van dieren met sterielen darm. De omstandigheden waren hem in zoo verre gunstig, dat hij juist een nieuw laboratorium had, dat hij voor deze proefnemingen kon inrichten. Met veel overleg werd eene inrichting gebouwd, waardoor het mogelijk werd kippeneieren steriel uit te broeden en

de jonge dieren zonder moederdier zóó te verplegen, dat zij in leven bleven. De lucht in de inrichting werd telkens op kiemvrijheid gecontroleerd. De grootste moeilijkheid was aanvankelijk het steriliseeren der eieren. Lang niet alle proeven slaagden. Met groot geduld werden de experimenten eenige jaren telkens in het voorjaar herhaald. De eerste maal wilden de dieren maar niet groeien, zij stierven binnen enkele dagen of werden gedood, omdat voor hun leven werd gevreesd. De darm bleek telkens geheel steriel. (66). Een volgenden keer werd na eenige dagen een deel der kuikens overgebracht in eene ruimte, waar behalve hetzelfde voedsel als eerst ook nog eene emulsie van kippenfaeces op den vloer was gebracht (67, 68). En die dieren gingen snel aan het groeien en kwamen er bovenop, terwijl de steriel geblevene succombeerden, nadat zij voortdurend in kracht en gewicht hadden afgenomen. Het voedsel bestond altijd uit gekookte gerst en eiwit met eierschalen. Het oudste dier leefde 30 dagen. Tegen deze proeven is aangevoerd, dat de steriliseering der eieren de groeikracht had geschaad. [Mme METCHNIKOFF (69).] SCHOTTELIUS (67) zelf komt hier uit alle macht tegenop, controles hebben bij hem bewezen, dat de kiemen hiervan volstrekt geen nadeel ondervinden.

De proeven zijn met zooveel overleg gedaan, dat nog geen steekhoudende aanmerking gemaakt is. Er volgt wel degelijk uit, dat kuikens niet zonder darmbacteriën kunnen opgroeien. SCHOTTELIUS (68) breidt deze waarneming uit en concludeert: „dass für die Ernährung der Tiere, speziell der warmblütigen Wirbeltiere, die Tätigkeit der Darmbakterien notwendig ist.” Eene dergelijke generalisatie is nog niet gemotiveerd. Vooral

waar het hier zulke jonge dieren geldt met hunne bekende gebrekkige fermentproductie. Dat bij hunne digestie bacteriefermenten eene werkzame rol zouden kunnen spelen, is begrijpelijk. SCHOTTELIUS merkte op, dat de steriele kuikens veel gulziger aten dan de bacteriehoudende en dat zij nochtans niet aankwamen in gewicht, maar dat het voedsel onverteerd in hun darm werd teruggevonden. Dat de cellulose- en pectinemembranen van de gerst niet werden aangetast, valt niet te verwonderen.

Tegenover deze proefnemingen worden gewoonlijk gesteld die van NUTALL en THIERFELDER (70). Deze hebben cavia's per sectionem Caesaream steriel doen geboren worden en verder steriel verpleegd. De dieren namen daarbij gedurende de eerste dagen toe in gewicht en ontwikkelden zich als andere. Het voedsel bestond uit den voor cavia's op dien leeftijd ongewonen kost van gesteriliseerde melk met cakes. De proefnemers begingen de fout hunne proefdieren te spoedig te dooden. De darm bleek bacterie-vrij te zijn gebleven. Maar èn ding werd door hen over het hoofd gezien en het was SCHOTTELIUS (67), die er opmerkzaam op heeft gemaakt. De darm was sterk uitgezet en gevuld met wat SCHOTTELIUS onverteerde melk noemde. Hij berekent, dat het gewicht van de hoeveelheid melk, die op die manier geborgen kan worden, meer dan voldoende is om de geconstateerde gewichtstoename te verklaren.

De experimenten van NUTALL en THIERFELDER zijn nooit herhaald. Andere proefnemingen in deze richting uitgevoerd, pleiten voor SCHOTTELIUS' opvatting van de zaak. De uitvoering liet echter vaak veel te wenschen over, wat aan de bewijskracht afbreuk deed. Zoo heeft

Mme METCHNIKOFF (69) gewerkt met larven van *Rana temporaria*. Door herhaalde wasschingen en spoelingen werden de bacteriën, die er aan kleefden, zooveel mogelijk verwijderd. Ten slotte werden 80 afzonderlijke larven elk in eene gesloten ruimte met steriel water gebracht en daarin bewaard. Ongelukkigerwijze stierven er al heel spoedig 31 van. De noodlottige sterfte ging steeds verder voort, zoodat op den 79^{en} dag de laatste omkwam. Van de overgebleven 49 stuks bleken er later 42 niet steriel te zijn geweest. Het voedsel bestond uit gesteriliseerd brood, ofschoon men van te voren wist, dat het de ontwikkeling van deze larven altijd vertraagde. De sterfte trad het laatst onder de steriele individuen op, maar deze hadden zich belangrijk minder ontwikkeld dan de niet-steriele. Mme METCHNIKOFF weet de meerdere sterfte onder de laatste aan de condities der proefneming, die meebracht, dat zij te midden van hunne eigen stofwisselingsproducten en die van hunne bacteriën moesten leven. De leering uit deze proeven te trekken is dus, dat ook amphibieën-larven zonder bacteriën niet groot kunnen worden.

De bezwaren van deze wijze van proefnemen werden gevoeld door Moro (71). Hij deed de proeven over en kwam aan de nadeelen tegemoet door te zorgen voor voldoende waterverversching. Zijne proefdieren waren larven van *Pelobates fuscus*. Naast de steriele dieren had hij controles, die met faeces van het moederdier werden voorzien. De onderzoeken werden 34 dagen lang voortgezet. Het resultaat was, dat de steriele dieren duidelijk achterbleven in groei. Resumeerende komen wij tot de slotsom, dat voor jonge individuen de aanwezigheid van eene normale bacteriën-flora noodig is.

Voor oudere dieren daaruit eene gevolgtrekking te maken is gewaagd, gegeven het bestaande verschil in physiologisch opzicht.

Wanneer wij gaan samenvatten, wat in de literatuur is te vinden omtrent den aard van het nut, dat darmbacteriën zouden kunnen opleveren, dan ontmoeten wij steeds weer dezelfde 4 punten, die wij nu achtereenvolgens zullen behandelen.

1. Coli- en andere obligate darmbacteriën overgroeien pathogene en andere vreemde kiemen. Zij houden daardoor ook de rotting binnen de perken, verhinderen die in den dundarm geheel en in den dikkarm gedeeltelijk. Wanneer er maar voldoende koolhydraten aanwezig zijn om als voedsel te dienen voor de zuurvormende bacteriën, dan verdrijven die de rottingsbacteriën wel. Deze redeneering bracht TISSIER (72) er toe om in gevallen van abnorm hevige darmrotting als geneesmiddel uitsluitend toe te dienen een mengsel van koolhydraten met bifidus-bacillen — welke therapie uitnemend slaagde. Wanneer wij in bouillon te samen zaaien coli-bacteriën met diphterie-bacteriën, dan houdt de coli-bacterie het veld. Eene combinatie van coli met den bacillus fluorescens liquefaciens doet ook coli aan de winnende hand blijven. Maar strepto- en staphylokokken laten zich op deze wijze niet verdringen. Deze waarnemingen zijn van STRASSBURGER (73).

HOROWITZ (74) deed zulk eene waarneming ten opzichte van den bacillus prodigiosus met coli-bacteriën te samen gebracht. Het is wel overbodig hier nog eens mede te deelen, dat darmsap een goede voedingsbodem voor coli-bacteriën is. Dat coli de eigenschap heeft andere bacteriën in hun groei te remmen en te overgroeien,

is al eens ter sprake gekomen bij de behandeling der methoden om uit faeces verschillende bacteriën, en vooral de facultatieve, te kweken. Men vermeed dat dan door voedingsbodems van eene bepaalde samenstelling te nemen of ook wel door de faeces heel sterk te verdunnen alvorens uit te zaaien [WEISS (75).] MORO en MURATH (76) vonden ook, dat het bacterium coli uit zuigelingenfaeces buiten het lichaam rotting remde. Hiermede hangt wellicht ook samen, dat patiënten met harnekkige obstipatie, die altijd vermeerderde darmrotting vertoonen, zooveel minder bacteriën uitscheiden dan anderen [STRASSBURGER (45)]; bij hen vallen de coli-bacteriën grootendeels weg. VOORHOEVE (7) acht den tijd in de meeste gevallen te kort om eene werkelijke overgroeiing toe te laten en wil deze verschijnselen meer opvatten in dien zin, dat de coli-bacteriën den bodem ongeschikt maken voor andere. EYKMAN (56) nam dan ook waar, dat coli- en faeces-voedingsbodems den groei van andere bacteriën remmen.

2. Darmprikkeling tot peristaltiek door stofwisselingsproducten. Hierbij nemen de gevormde gassen eene voornamelijk plaats in. En ook hier kan weer tot bevestiging van de veronderstelling, dat hierin een nuttig effect der darmbacteriën ligt, de waarneming van STRASSBURGER (45), later door velen bevestigd, worden aangehaald, dat men bij chronische obstipatie minder faeces-bacteriën vindt dan gewoonlijk.

3. Fermentatieve werking. Dit is eene functie, die bij volwassen dieren overbodig zou kunnen schijnen. Daar zorgt de darm er zelf voor. In hoeverre deze werking van nut is voor in cellulose en pectine opgesloten voedingsstoffen, valt buiten ons bestek. Dat

voor jonge dieren de bacteriën als praeparatoren van het voedsel nuttig kunnen zijn, is boven gebleken. Bij volwassen individuen lijkt dat niet meer noodig. En velen achten den tijd daarvoor ook te kort. Maar wij mogen bij quaesties als deze nooit vergeten, dat men gewoonlijk de proeven nam met geïsoleerde en daardoor verzwakte bacteriën. SCHMIDT (77) heeft dit laatste experimenteel vastgesteld. Darmbacteriën vergisten sneller dan eene cultuur. En bovendien worden waarschijnlijk in den darm de gevormde producten direct weggevoerd, zoodat het evenwicht als het ware nooit bereikt wordt. Onderzoekingen met fermenten hebben bewezen, hoezeer de reactie-snelheid en de bereikte graad van omzetting beïnvloed wordt door aanwezigheid of afwezigheid der producten. Zoo heeft ook SCHMIDT, door neutralisatie van het gevormde zuur bij de gisting van sacchariden door coli-bacteriën, de reactie kunnen versnellen en het evenwicht verschoven.

4. Prikkeling tot vorming van immuunstoffen. Dat immuunstoffen worden gevormd, is een onmiskenbaar feit. BOCKENHEIMER (78) deed uitvoerige onderzoekingen over de bactericide kracht van menschen-serum tegenover een willekeurigen coli-stam. Al zijne proeven werden gedaan door bacteriën te mengen met serum en er dan platen van te gieten. Hij kon eene duidelijke bactericide in alle onderzochte gevallen vaststellen. Eene herhaling met konijnenserum had hetzelfde resultaat. KONRAD (79) vond hetzelfde eveneens voor konijnenserum.

Behalve amboceptoren worden geregeld agglutininën gevormd. Voor konijnen hebben wij berichten daaromtrent van DREYER en WALKER (80). FICHERA (81) ging

dit na voor menschen en vond bij normale personen nog een agglutinatietiter van 1 op 50. In 39.1 % van zijn onderzochte gevallen kon DE HAAN (82) een titer van meer dan 1 op 5 vaststellen. Bij diarrhee klom dat tot 76 %. Uitvoeriger zijn de onderzoekingen van MAYER (83), die het agglutineerend vermogen voor coli-bacteriën bij den mensch op verschillende leeftijden naging. Hij vond, dat pasgeborenen zelden agglutinatie vertoonden. Een enkelen keer had het verschijnsel echter nog wel plaats bij eene verdunning van 1 op 100, en dan vertoonde het moederlijk serum een titer, die daarmede parallel ging.

Volwassenen agglutineeren vaak nog bij eene verdunning van 1 op 250. In het algemeen neemt de agglutineerende kracht met den leeftijd toe. Hiermede stemmen de cijfers van anderen goed overeen. PFAUNDLER (84) vindt bij kinderen nog geen agglutinatie bij eene verdunning van 1 op 10; maar oudere kinderen bereiken wel eens 1 op 30. Deze cijfers zouden nog gemakkelijk te vermeerderen zijn. Er blijkt uit, dat de coli-bacteriën van uit den darm antilichamen weten op te wekken. Eene zekere immunisatie tegen de eigen coli-bacteriën wordt dus verkregen. In hoeverre de aldus ontstane beschutting ook van kracht is tegenover andere bacteriën, is eene twijfelachtige zaak.

Nauwkeurige onderzoekingen ontbreken hier. Houden wij ons aan de eenvoudigste en daarom meest toegepaste immuniteitsreactie, de agglutinatie-reactie, dan vinden wij de meest tegenstrijdige opgaven. Voor een deel moet dat wel worden geweten aan het verwaarlozen van den principiëelen factor bij de agglutinatie-reactie: de verschillende agglutinabiliteit der verschillende

coli-stammen. Zoo kan de een zich voor de meest absolute specificiteit uitspreken en de ander van „groepreactie” gewagen, daarin zelfs thyphus- en paratyphus-bacteriën opnemende, alleen omdat het toeval hen met verschillend agglutinabele bacteriën deed experimenteeren. Op deze verhoudingen komen wij in het volgende hoofdstuk terug.

De vraag, die zich nu voordoet is: op welke wijze slaagt het organisme erin zich tegen die coli-bacteriën te immuniseeren, dringen deze door den darmwand heen? ROGOZINSKY (85) bewees, dat tijdens de resorptie ook bacteriën mee opgenomen worden. Wanneer men konijnen voedert met kool, kan men dat in de chylusvaten terugvinden en noch bij jonge, noch bij oude dieren houden de mesenteriale klieren het geheel tegen [ARBEITER (86)]. Heel vaak zijn coli-bacteriën in de mesenteriale klieren gevonden. Dat getuigt zelfs OPITZ (87), al past dat verder niet in zijn leer. MÜLLER (88) vindt bij 46 % van noodgeslachte of zieke dieren bacteriën in het vleesch en wel meest coli-bacteriën. KLIMENKO (89) heeft 56 konijnen onderzocht en vindt 18 keer coli-bacteriën in de mesenteriale lymphklieren en 11 keer in die van maag of dikkarm, te samen dus bij 29 dieren. HORN (90) bevestigt MÜLLER's resultaten, zonder cijfers te geven. BIEROTTE en MACHIDA (91) berichten, dat van 54 organen van slachtvee er 12 coli-bacteriën bevatten. FICKER (92) bevestigt het aanwezig zijn van coli-bacteriën in mesenteriale klieren van konijnen. DESOUBRY en PORCHER (93) gaan zelfs zoover, dat zij bij honden in den chylus en in het portale bloed geregeld bacteriën willen gevonden hebben. CONRADI (94) onderzocht 162 organen van slachtvee en vond 72 maal coli-bacteriën, en wel het meest in de lever.

Het staat dus wel vast, dat er bacteriën uit den darm kunnen binnendringen. De meeste onderzoekers houden intusschen vast aan de leer, dat normale slijmvliezen geen bacteriën doorlaten, maar stellen daarvoor eene laesie als noodzakelijke voorwaarde. Van welken aard die laesie zijn moet, blijft echter in het onzekere. Opzettelijk met het oog op bacterie-resorptie ondernomen proeven leverden verschillende resultaten. Gewoonlijk werd geëxperimenteerd met prodigiosus-bacteriën, omdat die zoo gemakkelijk waren terug te vinden. De moeilijkheid was om inhalatie en aspiratie buiten te sluiten, want van uit de long komen de bacteriën, met den bloedstroom mee, natuurlijk spoedig overal in het lichaam. Daarom volgde men meestal de methode, dat de prodigiosus-bacteriën in het rectum werden gebracht. Eene proef van HOROWITZ (74) waarbij zij per os werden gegeven, leverde als resultaat, dat zij in den darm werden overgroeid door de obligaten. HOLLE (95) voederde ook konijnen met prodigiosus en andere niet-pathogene kiemen en vond die voor een groot deel in de organen terug. Daar hij echter met groote quantiteiten werkte om de bactericidie van het bloed te ontgaan en bovendien de aspiratie niet voldoende uitsloot, bewijzen zijn proeven niet veel. FICKER (92) vond bij honden en katten, die hij met prodigiosus voerde, die wel in den geheelen darm, maar nooit ergens anders, met de belangrijke uitzondering, dat jonge dieren geregeld de bacteriën resorbeerden. UFFENHEIMER (96) krijgt pas resorptie, als hij door injectie van ± 30 cc geitenchromocyten alle complement uit het bloed van zijne konijnen gebonden had.

Meer te vertrouwen dan deze voederingsproeven zijn

die, waarbij de bacteriën in het rectum werden gebracht. Daaruit schijnt meestal te blijken, dat deze bacterie dan niet geresorbeerd wordt. RAVENEL, MAZYCK en HAMMER (97) konden er geen enkele meer terugvinden. MANNELLI (98) komt tot dezelfde slotsom. BACHRACH en STEIN (99) vinden ze nooit ergens anders dan in den dikkarm. DIETERLEN (100) bindt eerst den oesophagus af en vindt ze dan toch in de maag terug, maar elders niet. HESS (101) heeft de proeven zeer zorgvuldig overgedaan en vond, dat men na een rectaal clyisma van *prodigiosus*-bacteriën die altijd in het bloed en in de organen weer aantreft, als maar eene voldoende quantiteit bloed wordt onderzocht. Het af en toe vinden van deze bacteriën bij zulke proeven in maag en oesophagus wijt hij niet aan antiperistaltiek maar aan het infecteeren met bloed van maag- en oesophagus-inhoud bij de sectie. Proeven, waarbij bacteriën bij het voedsel gemengd waren, maar die toch betrouwbaar zijn, zijn die van MÜLLER (102). Hij nam zwakvirulente para-enteritidis en Gärtner-bacillen, die hij dan in de lymphklieren, niet in bloed of spieren, terugvond.

Vóór doorlaatbaarheid van den darmwand pleit ook FRANKE's (103) observatie, dat eene eenvoudige opium-toediening bij konijnen al coli-bacteriën in de mesenteriale klieren brengt. HILGERMANN (104) maakte mikroskopische praeparaten van verschillende deelen van den darmwand en vond er bacteriën diep ingedrongen. Bij konijnen was dit in sterkere mate het geval dan bij caviae.

De meeste schrijvers blijken het er over eens te zijn, dat de geheel gezonde darmmucosa geen bacteriën doorlaat bij het volwassen dier. SCHOTT (105) komt tot dit besluit na eene revisie van meer dan 100 artikelen.

Voor het jonge dier bestaan minder waarnemingen, maar die luiden juist omgekeerd. En bovendien is eene laesie van een stukje darmslijmvlies bij een volwassen dier al voldoende om bacteriën door te laten. Hoe gemakkelijk kan niet een deel van het groote darmoppervlak gelaedeerd worden!

Experimenteel is het effect van zulk eene laesie o. a. nagegaan door OKER BLOM (106). Incarceratie van een darmstuk brengt bacteriën door den darmwand heen. De literatuur over geïncarcereerde breuken bracht meer zulke waarnemingen.

HOLLE (95) vatte de zaak wat eenvoudiger op. Hij bewees, dat darmwand als dialyse-vlies gebruikt weerstand biedt aan bacteriën, die dus niet met den stroom mee van de hooger geconcentreerde oplossing naar de andere gaan; krabde hij echter eerst het epitheel af, dan was zulks wel het geval.

Al deze feiten samenvattende zou er dus in de resorptie van bacteriën, die zeer zeker bij het jonge dier en waarschijnlijk ook nog van tijd tot tijd eens bij volwassen dieren plaats vindt, gelegenheid genoeg gevonden worden om antilichamen te vormen. Wij behoeven dus niet aan te nemen, dat daarvoor infectie-processen noodig zijn geweest. Bovendien staat er nog een weg open, waardoor de microorganismen met hun waard in wisselwerking kunnen treden. Dat is de resorptie van hunne stofwisselingsproducten. Bacterie-vrije cultuurfiltraten van typhus-bacteriën geven wel geen immuniteit, maar toch wel agglutinenen-vorming [BRIEGER (107)]. CAREGA (108) bereidde uit eene bouilloncultuur van coli-bacteriën twee stoffen, waarvan de eene, intraveneus gebracht bij proefdieren, eene duidelijke agglutinenen-vorming veroor-

zaakte. Zelfs STRASBURGER (73), die eene resorptie van bacteriën absoluut loochende, erkende de resorptie van bacterie-producten.

Tegenover de voordeelen, die de darmbacteriën opleveren, staan natuurlijk ook wel nadeelen. Den nadruk op deze laatste legt vooral METCHNIKOFF (109). Van hem is het woord: „Cette flore est la cause principale de la trop courte durée de notre vie qui s'éteint avant d'avoir atteint son but.” En op eene andere plaats zegt hij, dat de lengte van den dikdarm omgekeerd evenredig is met de lengte van het leven. De arteriosklerose vooral weet hij aan vergiftiging met de producten der bacteriën. Inderdaad is het hem gelukt door injecties van indol eene kunstmatige arteriosklerose van de aorta bij konijnen te doen ontstaan. Consequent beveelt hij dan ook resectie van den geheelen dikdarm aan om de seniliteit te voorkomen. Zelf heeft hij dit middel evenwel niet toegepast. DISTASO (110), een zijner leerlingen, bericht over patiënten, bij wie deze operatie geschied was. Zij waren hunne vroegere obstipatie en intoxicatie-symptomen kwijt en hun algemeene toestand was belangrijk verbeterd. Over de frequentie van hunne defaecatie wordt niets medegedeeld; wèl dat er minder bacteriën en vooral minder rottingsbacteriën in hunne faeces voorkwamen.

In het volgende hoofdstuk worden proeven beschreven, waarbij de invloed van injecties met coli-bacteriën op de darmflora werd nagegaan, zoowel wanneer een hooge immuniteitsgraad werd bereikt, als ook wanneer het weerstandsvermogen van het organisme tegenover coli-bacteriën onmiskenbaar daalde. Op deze wijze werd

getracht een inzicht te krijgen in de mogelijke gevolgen van eene coli-vaccinatie bij den mensch, en bovendien in de normale immuniteitsverhouding van de coli-bacteriën tegenover het dier, welks darm zij bewonen. De wijze, waarop bij verhoogde immuniteit de darm daarvan blijkt geeft tegenover zijne bacteriën, wordt in het laatste hoofdstuk behandeld.

HOOFDSTUK II.

Als proefdieren hebben uitsluitend konijnen gediend. Zooals bekend is, zijn dit herbivoren. Zij hebben een darmkanaal van ± 470 cm lengte, waarvan duodenum ± 10 , ileum en jejunum samen ± 300 , coecum ± 40 , colon en rectum samen ± 105 cm innemen. Als injectie-materiaal werden coli-bacteriën van verschillende herkomst gebruikt. Sommige dieren zijn behandeld met bacteriën uit hun eigen darm gekweekt, andere met vreemde stammen, dwz. van andere konijnen afkomstig, nog weer andere met een coli-stam uit menschen-faeces geïsoleerd.

Van elk der proefdieren werd, voordat de behandeling begon, steeds eene coli-cultuur uit de faeces aangelegd. Dat geschiedde als volgt: door drukken op den buik werden faeces naar buiten gebracht en steriel opgevangen. Met een uitgegloeid mes werd de faecesbal doorgesneden en vervolgens uit het midden van den bal eene kleine quantiteit met eene oese afgeschraapt. Die oese werd dan in bouillon afgespoeld en daarna werden gelatine-platen met eene kleine hoeveelheid van dien bouillon geënt. Op die platen kwamen in hoofdzaak koloniën op van een zelfde uiterlijk. Ter meerdere zekerheid, dat werkelijk met eene reincultuur gewerkt werd, werd dan eene kolonie afgeënt en weer overgebracht in verschen

bouillon, daarin verdeeld, en met een weinig van dien bouillon werden wederom gelatine-platen gegoten. Een enkel woord over het uiterlijk van coli-koloniën op gelatine mag hier wel worden ingevoegd. ESCHERICH (41), de ontdekker van het bacterium coli, beschreef de kolonie als „Weinblattähnlich”. Die beschrijving is getrouwelijk door de latere onderzoekers overgenomen. Wel beschreef men er naast ook andere, die dan rond werden genoemd, maar de gekerfde onregelmatige rand bleef als typisch gelden. Onze ervaring in dezen is echter, dat als men bij het platen gieten zorg draagt uit te gaan van eene voldoende sterke verdunning, die koloniën met onregelmatig gevormden rand verminderen of wegblijven. Overigens vindt men in de literatuur herhaaldelijk druivenbladachtige koloniën beschreven bij microörganismen welke onder hunne natuurlijke verhoudingen in groote hoeveelheden samenleven. De kolonie, die zich uit ééne bacterie ontwikkelt, is in normale omstandigheden rond en blijft dat heel lang; eene niet-ronde kolonie vertoont, tenminste in jeugdigen toestand, meerdere groei-centra, is dus wel afkomstig van meerdere bacteriën.

De methode van BURRI om reïnculturen te verkrijgen werd door ons om de groote bewerkelijkheid en het vaak uitblijvende succes spoedig verlaten.

Het bacterium coli is niet gemakkelijk te definiëren als zoodanig. De gelatine-kolonie mag voor het ervaren oog zekere aanwijzing geven, zekerheid wordt alleen verkregen door overenting op verschillende voedingsbodems. De door ROTHBERGER (111) beproefde vereenvoudiging bleek niet geheel te vertrouwen. Hij verklaarde, dat coli-bacteriën op een neutraalrood houdenden

voedingsbodem die kleur reduceerden tot lichtgeel, met groene fluorescentie, waarop dan ten slotte ontkleuring zou volgen. Spoedig kwamen berichten van afwijkende stammen [ROSENBERGER (112)]. Wij hebben ons dus aan de gewone reacties gehouden en ons daarbij aangesloten bij VOORHOEVE (7). Eene bacterie-soort werd alleen dan bacterium coli commune genoemd, als zij de volgende eigenschappen bezat:

Sterk polymorphe bacil, van 1—3 μ lengte, en $\pm 0,2 \mu$ dikte, op zich zelve voorkomend of zeldzamer tot draden vergroeid,

geringe eigen beweeglijkheid in den hangenden druppel (Bij voorkeur werd op BURK's (113) raad daartoe het condensie-water van jonge agar cultures gebruikt),

afwezigheid van sporevorming,

negatieve reactie bij kleuring volgens Gram,

gemakkelijke kleuring met de gewone aniline-kleurstoffen,

snellen groei op alkalische agar tot vrij dikke, grijswitte, sappige, niet dradentrekkende cultuur,

snellen groei in bouillon, met aanvankelijk gelijkmatige troebeling en een bedekkend vliesje op het oppervlak, waarna de bouillon opheldert, doordat het vliesje zinkt om ten slotte als eene dikke massa op den bodem te worden teruggevonden,

groei in en op gelatine zonder vervloeiing,

stolling van melk binnen enkele dagen,

roodkleuring van Petruschky's lakmoeswei en Conradi-Drigalski's voedingsbodem,

gasvorming uit glucose en lactose,

indolvorming in bouillon. (Met Salkowski's reactie is dit binnen 48 uren al aantoonbaar, als men de proef als ringreactie doet).

De variëteiten van SMITH (114) of van MOORE en WRIGHT (115), waarvan de eerste behalve glucose en lactose ook nog saccharose vergist en daarom gesteld wordt tegenover de andere, die dat niet doet, werden beide door ons gevonden, maar gelijkelijk gebruikt.

Eene bacterië als coli te determineeren is dus geen eenvoudige zaak, toch werd nooit van bovenstaande eischen afgeweken en bijv. alleen op het uiterlijk van de gelatine-kolonie vertrouwd.

Niet voordat van een dier de eigen coli-stam gewonnen was, werd met de immuniseering begonnen. Voor de injecties werd de intraveneuse methode gekozen. De subcutane methode geeft te gemakkelijk abscessen en ulcera en verdient dus geen aanbeveling. Daarenboven heeft een konijn meerdere voor het doel zeer geschikte oorvenae. De injecties geschieden met stijgende hoeveelheden met intervallen van 6 à 8 dagen. Gewoonlijk werd met 1 oese van 2 mgr. begonnen; na eenige dagen werd 2, daarna 3 oeses ingespoten. Een enkelen keer bleek eene vierde injectie van 4 oeses voor de antilichamenproductie noodig te zijn. Vaak kon met twee injecties worden volstaan. Steeds werden de bacteriën, verdeeld in enkele cc physiologisch zout, gedurende een uur blootgesteld aan eene temperatuur van 60°, waarna eene controle-enting bewees, dat geen levende bacteriën meer aanwezig waren.

Waar de aldus ingebrachte bacteriën blijven, weten wij door de onderzoekingen van ARIMA (116). Door hem in eene oorvena van een konijn gebrachte coli-bacteriën verdwenen na een half uur voor het grootste deel uit het bloed. Zij waren dan echter niet in de organen terug te vinden overeenkomstig de bloedsver-

deeling. De meeste waren in de lever en de gal, minder in milt en beenmerg aantoonbaar. Spoot hij andere dan darm-bacteriën in, dan waren die nooit in de gal aan te toonen. SMITH en TENNANT (117) gingen op dezelfde wijze te werk en vonden hunne coli-bacteriën terug in galblaas en gal, en ontelbaar vele in den darm. Een controle-konijn gaf van uit die gedeelten meestal steriele platen. RICHET (118) concludeert uit zijne proeven, waarbij hij allerlei bacteriën intraveneus bracht dat die heel vaak door den darmwand heen worden uitgescheiden. BRETON, BRUYANT, en MÉZIE (119) komen ten opzichte van den bacillus prodigiosus tot hetzelfde resultaat.

Wij zien dus, dat de darm en darmorganen eene rol spelen bij de eliminatie van ingebrachte bacteriën. Het mechanisme dezer eliminatie echter is nog niet afdoend opgehelderd geworden.

Niet alle dieren verdroegen onze injecties even goed. Vruchteloos werd gepoogd om konijnen, die met coli-bacteriën uit een menschedarm gekweekt werden behandeld, in het leven te houden. Van de virulentieverhoudingen van coli-bacteriën is trouwens ook nog maar heel weinig bekend. Die hangen o.a. af van de voeding van het dier, waaruit ze afkomstig zijn. [SPAMPINATO (120)].

In het algemeen viel bij alle dieren eene gewichtsvermindering te constateeren. Dit sluit aan bij FINIZIO's (8) onderzoekingen in het vorige hoofdstuk aangehaald. Verder werd eene toename van het onderhuidsche vetweefsel opgemerkt en eene met sterke zwelling gepaard gaande fettige degeneratie der bijnieren. Mikroskopische praeparaten van deze laatste organen vertoonden in gevallen, waar de immuniteit eene behoorlijke hoogte

bereikte, bovendien eene sterke hyperaemie, in andere gevallen viel verder niets bijzonders te constateeren. Soms ook konden bloedingen worden aangetoond.

Met deze vondsten corresponderende publicaties zijn die van OPPENHEIM (121), van ROUX en YERSIN (122), van CHARRIN en LANGLOIS (123) en van ROGER (124). De bijnieren werden door hen gezwollen en haemorrhagisch bevonden bij infecties met diphterie, tetanus, pneumobacillen, en anthrax.

Gedurende het immuniseeringsproces werd het serum gecontroleerd. Meestal werd daartoe gebruik gemaakt van de eenvoudigste immunitaireactie, de agglutinatireactie. Deze werd om vergelijkbare resultaten te hebben, steeds op volkomen dezelfde wijze uitgevoerd. Het serum, dat door den bloedkoek uitgeknepen werd, werd steriel gecentrifugeerd en daarna tienmaal verdund met physiologische zoutsolutie. Van deze oplossing kwam 2cc in een haemolysebuisje. Daarna werden in eene rij haemolysebuisjes, die met 1 cc physiologisch zout gevuld waren gesteriliseerd, de verdunningen aangelegd door uit het eerste 1 cc over te pipetteeren in het tweede, daarna van het tweede 1 cc in het derde, en zoo verder. Zoo werden verdunningen van 1:10, 1:20, 1:40 enz. snel en gemakkelijk verkregen. In een afzonderlijk buisje werd eene dikke emulsie van eene 24 uur oude agarcultuur der coli-bacteriën gemaakt met behulp van physiologische zoutoplossing en daarvan 1 druppel aan elk buisje toebedeeld. Altijd werd een controle-buisje aangelegd, waar alleen physiologisch zout en bacteriën in kwamen. Vervolgens werden alle buisjes in een waterbad van 37° geplaatst. Na 3 uren werd het resultaat voorloopig genoteerd. Positieve agglutinatie werd

het verschijnsel genoemd, dat de bacteriën duidelijk makroskopisch klompjes hadden gevormd. Pas later volgde dan bezinking en clarificatie. Het voorschrift van zoovele handboeken om de reactie na 3 uren te beëindigen, omdat dan toch geen verdere agglutinatatie volgen zou, werd vaak als volkomen onjuist bevonden. Vele soorten coli-bacterien hebben meer tijd noodig en als men eenige uren langer wacht, is er vaak nog agglutinatatie gekomen in buisjes, waarin eerst, na 3 uur, niets te zien was. De reactie blijkt even betrouwbaar, want zij gaat toch niet verder dan tot eene zekere verdunning, met langer wachten wordt ten slotte niets méér bereikt, men moet alleen de reactie haar tijd laten. Te lang wachten is onmogelijk, het resultaat is constant. Op dit verschijnsel van langzame agglutinatatie is meer dan eens attent gemaakt, o. a. door PORCILE (125), maar er is weinig aandacht aan geschonken. Dit is eene der redenen geweest, waarom de agglutinatatie-reactie zooveel uiteenlopende resultaten heeft gegeven. Eene tweede bijzonderheid dezer reactie maakt haar bij het vergelijken der resultaten in verschillende gevallen nog gevaarlijker. Dit is de omstandigheid dat men in de eerste plaats rekening heeft te houden met de agglutinabiliteit van den coli-stam, waarmee men werkt en pas in de tweede plaats met de agglutineerende kracht van het serum. Hiermede wordt niet gedoeld op de spontane agglutinatatie, die sommige coli-stammen reeds in zout water vertoonen, maar op het feit, dat de eene stam zooveel gemakkelijker tot agglutinatatie te brengen is dan de andere. Dit heeft weer niets te maken met de snelheid van de reactie. De oorzaken van deze verschillen in agglutinabiliteit zijn volkomen onbekend.

Alleen hebben NICOLLE met THENEL (126) opgemerkt, dat eene goed agglutinogene bacterie altijd goed agglutinabel is en omgekeerd, en dat eene niet-agglutinogene bacterie ook niet-agglutinabel is. Dit verklaart hoe BURK (113) kan zeggen, dat het zoo moeilijk is een agglutineerend konijnenserum te maken tegen coli-bacteriën en dat de titer dan vaak eenvoudig niet hooger wil, allen injecties ten spijt. DEFALLE (127) meent de oorzaak der verschillende agglutinabiliteit te vinden in de dikte der bacteriehulsels, hoe meer kapsel en ciliën, hoe meer agglutinogeen. Of dit voor coli-bacteriën opgaat, is onbekend.

Onderzoekingen van PORGES hebben aangetoond, dat een omringend proteïne laagje de microorganismen in suspensie houdt en dat wisselwerking tusschen dit laagje en de antilichamen de vermoedelijke directe oorzaak is der immuniteits-reacties. De tijd ontbrak om na te gaan of er bij verschillende coli-stammen verband bestaat tusschen de agglutinabiliteit en den suspensietoestand.

Uit het voorafgaande blijkt wel met welk eene voorzichtigheid uit agglutinatie-reacties conclusies moeten worden getrokken. Agglutinabiliteit is eene eigenschap los van alle andere en onafhankelijk van cultureele verschillen der coli-bacteriën onderling [BURK (113)]. Zij neemt af, wanneer eene bacterie in het menschelijk organisme vertoeft, en sterk toe bij langdurig kweken op voedingsbodems [MÜLLER (128)], iets wat ook onze ervaring was. Een agglutineerend serum, dat vele maanden gestaan had, scheen in dien tijd toegenomen te zijn in agglutineerend vermogen; de oplossing van dit raadsel was, dat de coli-stam, waartegen het gemaakt was, in dien tijd steeds op voedingsbodems was voortgekweekt.

De specificiteit van een coli-serum mag dus niet alleen onderzocht worden door de agglutinatie-reactie, wanneer niets bekend is van de agglutinabiliteit der verschillende stammen. En een serum, dat nog agglutineert bij eene verdunning van 1 op 1000 behoeft niet hoogwaardiger te zijn dan een, dat zulks pas bij 1 op 100 doet. Op die manier is dan ook de agglutinatie-reactie bij onze proeven niet opgevat. Zij is slechts gebruikt om na te gaan, of de immuniteitsgraad steeg. Wanneer een konijn vóór de eerste injectie een coli-stam agglutineerde bij eene verdunning van 1 op 10, en wij zien dat vermogen na de 1^e injectie stijgen tot 1 op 160, om na de 2^e injectie te worden 1 op 640 en ten slotte 1 op 2560, dan is het duidelijk dat de immuniteit moet zijn toegenomen. Deze cijfers zijn afkomstig van een onzer protocollen. De vorming van amboceptoren behoeft hiermede geen gelijken tred te houden. Agglutinine en amboceptor zijn geheel verschillende lichamen. Een serum kan rijk zijn aan het eene en arm aan het andere, zooals DEUTSCH (129) nog eens ten overvloede experimenteel bewezen heeft. Sterk agglutineerend vermogen vond hij altijd samengående met sterke bactericidie, maar zwakke agglutinatie zegt niets omtrent amboceptoren. Zoo gaan ook GRUBER en DURHAM (130), de ontdekkers der reactie, niet verder dan dat zij haar „aufs Engste mit der Schützwirkung der Sera verknüpft” noemen. CASTELLANI (131) vindt, dat agglutinine en amboceptor althans in de milt niet gelijktijdig optreden, dat het agglutinine het eerst uit het bloed verdwijnt en dat agglutinenen vaak voorkomen zonder amboceptoren.

De condities, waaronder beide afzonderlijk optreden, zijn gedeeltelijk bekend. Injectie van doode coli-bacteriën

geeft een beter agglutineerend serum dan van levende DUBOIS (132) vond, dat injectie van microben, die op 115° waren verhit, alleen agglutinenen opwekten, maar geen sensibilisatoren. Ook de organen, waar beide stoffen worden gevormd, schijnen te verschillen. Amboceptoren vindt men sterker in bloedvormende organen dan in het bloed [DEUTSCH (129)], agglutinenen juist omgekeerd. [RATH (133)]. Dit laatste feit zou dan een bewijs zijn, dat tenminste de agglutinenen niet in de bloedbereidende organen en waarschijnlijk dus ook niet in de bloedcellen van het circuleerende bloed zouden worden gevormd.

De resultaten, die wij van injecties met coli-bacteriën kunnen verwachten ten opzichte van die bacteriën in den darm, hangen van verschillende factoren af. De specificiteit der immuniteitsreacties binnen de groep coli-bacteriën is eene moeilijke zaak. Allereerst komt de vraag: heeft ieder individu zijn eigen coli-stam, die slechts specifiek aantastbaar is door tegen hemzelf gevormde antilichamen? In dat geval is alleen effect te verwachten van injecties met bacteriën uit het eigen rectum gekweekt. Vervolgens komt dan de vraag: heeft ieder organisme maar èèn individueelen stam of meerdere? En dan ten slotte nog: blijft die stam altijd dezelfde, het geheele leven door? Een antwoord op al deze vragen kan slechts met voorzichtigheid gegeven worden. Dat de agglutinatie-reactie ons niet veel helpen kan, zal na het voorafgaande duidelijk zijn. Daartoe zouden telkens agglutininabiliteitsbepalingen gedaan moeten worden en die eigenschap is niet gemakkelijk meetbaar. Om een enkel voorbeeld te noemen: normaal konijnenserum agglutineert een eigen coli-stam gewoonlijk sterker dan een vreemden, maar toch is dit lang niet altijd het

geval. Pleit dit nu tegen de veronderstelling, dat elk individu een eigen specifieke stam bezit? Het kan even goed bewijzen, dat wel elk individu een eigen stam heeft, maar dat de specificiteit geen absolute is en dat de agglutinabiliteit der beide stammen toevallig verschilde. Coli blijft altijd eene groep, zooals ESCHERICH al dadelijk gezegd heeft. De specificiteit binnen die groep is geen absolute, maar eene relatieve en dat wel om ons onbekende redenen. Van groote specificiteit spreken AMIRADZIBI's (134) proeven. Hij immuniseerde cavia's afzonderlijk met 5 verschillende coli-stammen. De dieren reageerden na eenigen tijd absoluut specifiek op den stam, waarmee zij ingespoten waren, zoowel anaphylactisch als met agglutinatie en ook met complement-binding. KRAUS en AMIRADZIBI (135) hadden vroeger deze specifieke anaphylaxie al eens meer vastgesteld en die zelfs passief overdraagbaar bevonden. Maar andere waarnemingen, en ook de onze, getuigen van andere, minder streng specifieke, verhoudingen. BOCKENHEIMER (78) kon geen onderscheid in bactericide kracht van een normaal menschen serum vinden voor verschillende coli-stammen van allerlei menschen afkomstig. BETTENCOURT en BORGES (136) konden met het serum van een geimmuniseerd konijn met de complement-bindingsmethode geen onderscheid vinden tusschen coli-stammen afkomstig van menschen of van dieren, FERREIRA, HORTA en PAREDES (137) evenmin. HOLOBUT (138) vond geen specifieke anaphylaxie, zoolang zijne onderzoekingen zich tot de coli-groep beperkten. Uit onze proeven blijkt ook, dat de veranderingen in de darmflora, die wij bij de immunisatie hebben verkregen, onafhankelijk zijn van het feit, of met den eigen stam of met een

vreemden werd geïmmuniseerd. Een tegen zijn eigen colistam geïmmuniseerd dier, vertoonde overeenkomstige veranderingen als een, dat later met het serum van het eerste langs passieven weg geïmmuniseerd werd. Eene absolute specificiteit is dus zeer zeker niet aanwezig, maar eene relatieve is evenmin te ontkennen. Een immuunserum agglutineert den stam, waartegen het gemaakt werd, altijd veel sterker dan andere en is daartegenover ook veel sterker bactericied. Een konijn, dat den stam ter immunisatie gebruikt agglutineerde bij eene verdunning van 1 op 160, was tegenover een anderen stam die toch heel goed agglutinabel was, pas werkzaam bij eene verdunning van 1 op 10; in een ander geval waren de cijfers 1 op 80 tegenover 1 op 40; een ander maal was het 1 op 320 tegenover 1 op 80. Uit een bactericidie-oogpunt waren de verschillen minder groot, maar eene zekere specificiteit is toch onmiskenbaar. Deze proeven werden als volgt genomen: Bij afdalende hoeveelheden van het immuunserum werd gevoegd telkens $\frac{1}{2}$ cc cavia-complement in eene verdunning van 1 op 10 en bovendien $\frac{1}{2}$ cc van eene bacterie-emulsie. De hiermee gevulde buisjes werden 3 uur bij 37° gehouden en daarna werd met den inhoud van elk buisje eene gelatine-plaat gegoten. Het aantal der daarin na 48 uur opgekomen koloniën was eene maat voor de bactericide kracht van het serum. Steeds werd gevonden, dat dit vermogen het sterkst was tegenover de ter immunisatie gebruikte bacterie, maar dat het tegenover andere toch allerm minst ontbrak. Ter verduidelijking mogen een paar tabellen dienen. Met bacterie-emulsie is bedoeld bouillon, waarmee eene gewichtshoeveelheid bacteriën 125 000 000 000 malen verdund is.

Serum konijn VIII met coli-stam VIII (den eigen stam, waarmede geïmmuniseerd was).

Buisjes.	Bacterie-emulsie.	Cavia-complement 1:10	Serum 1 cc.	Aantal koloniën.
1	$\frac{1}{2}$ cc	$\frac{1}{2}$ cc	1 : 10	80
2	" "	" "	1 : 30	100
3	" "	" "	1 : 90	2000
4	" "	" "	1 : 270	∞
5	" "	" "	1 : 810	∞
6	" "	" "	1 : 2430	∞
7	" "	" "		∞
8	" "	" "		∞

Serum konijn VIII met coli-stam W (willekeurigen konijnenstam).

Buisjes.	Bacterie-emulsie.	Cavia-complement 1:10	Serum 1 cc.	Aantal koloniën.
1	$\frac{1}{2}$ cc.	$\frac{1}{2}$ cc.	1 : 10	1600
2	" "	" "	1 : 30	80000
3	" "	" "	1 : 90	∞
4	" "	" "	1 : 270	∞
5	" "	" "	1 : 810	∞
6	" "	" "	1 : 2430	∞
7	" "	" "		∞
8	" "	" "		∞

Serum konijn XII met coli-stam XII (den eigen stam, waarmede geïmmuniseerd was).

Buisjes.	Bacterie-emulsie.	Cavia-complement 1:10	Serum 1 cc.	Aantal koloniën.
1	$\frac{1}{2}$ cc.	$\frac{1}{2}$ cc.	1 : 10	100
2	" "	" "	1 : 30	300
3	" "	" "	1 : 90	1000
4	" "	" "		∞
5	" "	" "		∞

Serum konijn XII met coli-stam W (willekeurigen konijnenstam)

Buisjes.	Bacterie- emulsie.	Cavia- complement 1:10	Serum 1 cc.	Aantal koloniën.
1	1/2 cc.	1/2 cc.	1:10	700
2	" "	" "	1:30	1200
3	" "	" "	1:90	∞
4	" "	" "		∞
5	" "	" "		∞

Wij zien dus ook hier eene relatieve specificiteit. Toch blijft de specificiteit in principe bestaan. We moeten dientengevolge aannemen, dat er individueele coli-stammen bestaan, dat ieder dier zijn eigen stam heeft en dat die stam enkel en alleen door het verblijf in dat eigen dier zijne specifieke eigenschappen verkregen heeft. Wel kan men uit één dier verschillende coli-stammen kweken, die zoowel in cultureel als in agglutinoir opzicht verschillen, maar die stammen staan elkaar in die opzichten toch nader dan een vreemde tot een van hen. [KREISEL (139)]. Bovendien is het voorkomen in één darm van verschillende stammen eene zeldzaamheid. Ons is het niet gelukt, ondanks herhaalde proeven in die richting, ooit uit een konijn een coli-stam te kweken die zich anders verhield, cultureel of agglutinoir, dan de eerste uit dat dier gekweekte. SMITH (140) heeft dit ook al geconstateerd. Een immuunserum nl. tegen een coli-stam van een kind agglutineerde alle andere koloniën van hetzelfde kind, ook al werden die veel later uit het rectum gehaald. CANY (141) evenzoo, hij vond na een interval van 13 dagen dezelfde coli-bacterie bij zuigelingen terug. Gaf hij een zuigeling calomel, dan verschenen er bijzonder veel coli-bacteriën in de faeces, die zich anders

verhielden. Na het herstel kwam dan de eigen coli-stam weer terug. TOTSUKA (142) heeft experimenten bij zich zelfen gedaan, die op hetzelfde wijzen.

In verband met het vooraangaande is dit een feit van beteekenis. Wij wezen reeds op de betrekking, die er zou bestaan tusschen den suspensie-toestand en de agglutinabiliteit eener microbe. Sterilisatie van den darm met eene daarna terugkeerende coli-flora, maakt den darminhoud ongetwijfeld vergelijkbaar met eene jonge cultuur, waarvan noodzakelijkerwijze de suspensie-toestand een andere is dan bij eene oude cultuur.

JEHLE en PINCHERLE (143) konden op deze wijze maandenlang bij een zuigeling denzelfden coli-stam terugvinden. Voerden zij vreemde coli-bacteriën in den darm, dan werden die spoedig geheel uitgescheiden. Volgens hen houdt het organisme dus zijn eigen coli vast. Ook KREISEL (139) vindt na eene tusschenpoos van 4 weken in menschenfaeces nog dezelfde coli-bacterien in agglutinoir opzicht terug. MAYER (83) bericht van langzame veranderingen in dit opzicht, die sterker worden, wanneer er pathologische processen in den darm optreden. BLUMENTHAL (144) komt tot dezelfde slotsom. Op sierlijke wijze toonde SEIFFERT (145) het bestaan van een eigen coli-stam aan. Hij gewende coli-stammen aan een voedingsbodem met hoog malachietgroen-gehalte. Werden deze bacteriën nu in een proefdierendarm gebracht, dan werden zij altijd na korten tijd geheel uitgescheiden. Werd de eigen stam op die manier behandeld en dan weer ingebracht, dan kon die onbepaald langen tijd in de faeces aangetoond worden.

Waardoor deze eigenaardige verhoudingen tusschen microbe en gastheer ontstaan, is onbekend. Het dierlijk

organisme schijnt den aard der coli-bacteriën te kunnen beïnvloeden. Experimenteel is hier weinig over bekend. COHN (146) heeft eens typhusbacillen herhaaldelijk in telkens verse actieve sera gebracht en op die wijze een stam gekregen, die er niet meer door werd aangegrepen. Die eigenschap was zelfs erfelijk geworden. Men kan zich voorstellen, dat op deze wijze ook de coli-bacteriën een invloed van het organisme, waarin zij leven, ondergaan, en dat het serum van ieder individu persoonlijke eigenschappen bezit, afhankelijk van zijne voeding, doorgemaakte ziekten en dergelijke, is bekend genoeg. Een duidelijk bewijs, dat de specificiteit der coli-bacteriën toch slechts eene relatieve is, ligt in de resultaten door ons verkregen, wat betreft de coli-bacteriën in den darm van onze geïmmuniseerde konijnen. Gelijk boven reeds gezegd is, waren de veranderingen in den darm even groot, wanneer wij vreemde stammen, als wanneer wij den eigen stam ter immunisatie hadden gebruikt.

De verwachting was, dat de coli-bacteriën uit den darm zouden verdwijnen, zoodra de immuniteit hoog genoeg was gestegen. Daartoe werd het agglutineerend vermogen van het serum geregeld nagegaan. Een paar dagen na eene injectie was dat altijd belangrijk lager dan daar voor, het optreden van eene negatieve phase van WRIGHT werd dus duidelijk gedemonstreerd. Als voorbeeld diene konijn I. Op 1 December vóór de behandeling was begonnen, bedroeg het agglutineerend vermogen voor den eigen stam 1:20; denzelfden dag werd er ingespoten met den eigen stam en het daalde den volgende dag tot 0, om dan langzaam te stijgen. Den 12^{en} December was het 1:80 geworden, daalde na de

injectie op dien dag weer tot 1 : 40 om dan echter snel de hoogte in te gaan. 25 December was het weer 1 : 80, 30 December was het 1 : 2560; 18 Januari was het nog daar boven. Een overeenkomstig proces maakte konijn IV door. Op 8 December bedroeg het vermogen voor een vreemden stam nagenoeg niets. Op 9 December volgde de eerste injectie met dien stam. 12 December agglutineerde het serum nog bij 1 : 160. Toen daarop 15 December de volgende injectie kwam, was het den dag daarna slechts 1 : 80. Toch werd 20 December eene nieuwe injectie gewaagd in de hoop, dat de negatieve phase voorbij zou zijn. Den 23^{en} December was het weer 1 : 80, maar 30 December werd bij 1 : 5000 nog totale agglutinatie gezien. Niet bij alle dieren verliep het proces zoo voorspoedig. De oorzaak van dezen minder goeden gang van zaken is moeilijk op te geven. Misschien was er dan ingespoten in eene negatieve phase, of was er complementgebrek. De dieren waren dan den dag na eene injectie opvallend lusteloos en weigerden te eten. De ziekelijke toestand uitte zich verder in het optreden van diarrhee, sterke vermagering en krachteloosheid. Het einde was, dat zulke dieren succombeerden, als zij tenminste niet vòòr dien werden afgemaakt om het onderzoek van den darm nog mogelijk te maken, zonder dat postmortale veranderingen de resultaten daarvan twijfelachtig konden doen zijn.

Wanneer geoordeeld werd, dat de immuniteit hoog genoeg was gestegen, werd het dier steriel verbloed. In de blootgelegde carotis werd eene canule gebonden, waardoor het bloed werd afgetapt en vervolgens bewaard om op bactericidie te worden onderzocht en eventueel bij een ander dier te worden ingebracht. Vervolgens werd

de buikhuid geschoren en de buikholte steriel geopend. Met behulp van eene gloeiende stevige entnaald werd de darm steriel opengeschroeid en dan werd met eene op 2 mgr. geijkte oese eene quantiteit darminhoud, zoo ver mogelijk verwijderd van de geschroaide plek, naar buiten gebracht. Die hoeveelheid werd verwreven in 10 cc physiologisch zout. Op deze wijze werd materiaal genomen uit:

de maag,

het duodenum,

den dundarm ongeveer 20 cm. beneden het duodenum,

den dundarm ongeveer 20 cm. boven de valvula ileocolica,

het colon ongeveer 20 cm. beneden de valvula-ileocolica,

het coecum op de helft van zijne lengte,

den appendix op de helft van zijne lengte,

het rectum daar, waar faeces aanwezig waren.

Tevens werd de vulling van de verschillende darmstukken genoteerd. In tegenstelling met wat KOHLBRUGGE daarover opgeeft, werd altijd de inhoud van den dundarm onregelmatig verdeeld gevonden. KOHLBRUGGE meent gezien te hebben, dat altijd, dank zij de rhythmische opening en sluiting van den pylorus, de eene helft van den dundarm leeg en de andere helft vol is.

Altijd gevuld zijn colon, coecum en appendix. Het rectum heeft van afstand tot afstand keutels. In deze laatste afdeelingen maakte dus de plek, waar het oogje van de naald gevuld werd, geen onderscheid en in den dundarm namen wij zooveel mogelijk een leeg gedeelte, dwz. een stuk, waar alleen darmslijm aanwezig was, om geen kans te loopen ingeslikte coli-bacteriën mede te nemen. KLEIN (147) geeft op, dat men door in ééne

darmafdeeling van verschillende plekken te enten hoogstens verschillen vindt van 40%.

Met de verschillende buisjes, die nu op de beschreven wijze van darminhoud waren voorzien, werd zoo spoedig mogelijk verder gewerkt. Coli-bacteriën groeien ook in zout water, wanneer men tenminste bij de bereiding niet van zuiver gedistilleerd water en chemisch zuiver zout is uitgegaan, en dat zou de uitkomsten kunnen bederven. Van elk buisje werd 1 cc genomen en daarmee werd eene gelatine-plaat gegoten. Na 48 uren werden de opgekomen koloniën onderzocht. De vervloeiende bleven verder geheel buiten beschouwing. De andere waren meestal voor het overgrootste deel onderling gelijk en bleken dan bij nader onderzoek coli-koloniën te zijn.

Om nu een oordeel te hebben over quantitative veranderingen, moesten eerst de normale cijfers bekend zijn. In de literatuur werden alleen eenige cijfers gevonden bij KLEIN (147). Deze geeft het aantal levende bacteriën, dus niet alleen coli-bacteriën, op, door hem bij normale konijnen gevonden. Lastig is alleen, dat hij den heelen dundarm te samen heeft genomen, en evenzoo coecum, appendix en colon ascendens, en ten slotte dikdarm en rectum. Zijne cijfers gelden voor 1 mgr. darminhoud. Wij kunnen veilig aannemen, dat de grootte meerderheid van zijne bacteriën coli-bacteriën zijn geweest. Om in onze tabellen te passen zijn de cijfers wat anders gerangschikt. Van de 6 konijnen, die KLEIN op deze wijze onderzocht, is het gemiddelde berekend. Voor meerdere zekerheid is ook nog door ons van 3 normale konijnen berekend, hoeveel levende coli-bacteriën bij hen per mgr. darminhoud in de verschillende darm-

afdeelingen gemiddeld voorkomen. De gevonden cijfers wijken hier en daar van die van KLEIN af. Deze verschillen zouden van voedsel, stalling en dergelijke factoren afhankelijk kunnen zijn. Immers men vindt natuurlijk behalve den eigen coli-stam, ook nog de toevallig met het voedsel ingeslikte bacteriën.

In dezelfde tabel zijn nu de uitkomsten van het darm-onderzoek van onze konijnen opgesteld. In de kolom, waarboven staat agglutinatietiter, is de verdunning van het serum genoteerd, die kort voor of bij de verbloeding nog agglutineerend werkte.

Konijn.	Agglutinatietiter.	Maag.	Duodenum.	Dundarm 1.	Dundarm 2.	Colon.	Coeum.	Appendix.	Rectum.
Klein	—	—	25	25	25	60	45	45	160
Normaal	—	—	5	5	120	650	400	1320	800
III	$\frac{1}{3200}$	—	0	0	0	15	35	—	135
I	$\frac{1}{3200}$	—	5	180	0	40	20	—	—
IV	$\frac{1}{6400}$	—	0	0	0	0	0	—	—
VIII	$\frac{1}{270}$	—	—	0	0	—	320	260	30
E	$\frac{1}{1230}$	10	0	5	20	80	10	25	20
F	$\frac{1}{2560}$	0	0	0	0	25	45	20	250
H	$\frac{1}{6400}$	15	0	5	5	0	15	0	0
G	$\frac{1}{160}$	25	0	0	0	1250	1000	150	100

Deze cijfers beteekenen zonder twijfel eene positieve uitkomst van het onderzoek. Dat zooveel malen geen enkele levende coli-bacterie meer te vinden was, moet toch zeer zeker worden geweten aan de immunisatie. Natuurlijk zijn niet alle coli-bacteriën verdwenen. Met iedere voedselopname komt eene nieuwe lading coli-bacteriën in den darm

aan. Dat de verhoogde bactericidie van den darm niet zoo ver ging, dat ook die microörganismen werden afgemaakt, is begrijpelijk. In alle gevallen is eene daling van het aantal coli-bacteriën onmiskenbaar. Bovendien zou uit de gegeven cijfers kunnen worden opgemaakt, dat met een hooger agglutinatietiter eene versterkte inwerking op de darmflora gepaard gaat. Vergelijkt men bijv. konijn IV met konijn G, dan is dat zeer duidelijk. Over het algemeen valt verder op te merken, dat de darmgedeelten met het kleinste lumen de grootste vermindering in bacterierijkdom vertoonen. Het duodenum en de verdere dundarm vertoont gewoonlijk de laagste cijfers. Vermoedelijk is dit verschijnsel het gevolg van het feit, dat in een dergelijk darmgedeelte de inhoud dichter bij het darmoppervlak ligt en dus beter aan de inwerking daarvan is blootgesteld. De bacterie-doodende kracht moet toch op de eene of andere wijze van het slijmvlies uitgaan. Deze opmerkingen gaan niet door voor den appendix. Trouwens, KOHLBRUGGE (48) beschouwt dit darmstuk als de kweekplaats der coli-bacteriën, en velen met hem. Van daar uit zouden de coli-bacteriën, wanneer door bijzondere omstandigheden de heele verdere darm van coli-bacteriën werd gereinigd, het verloren gebied weer herwinnen.

Van daar uit laat KOHLBRUGGE ook de bacteriën den darm overgroeien, wanneer de dieren of opzettelijk of toevallig in minder goede conditie worden gebracht. Het laat zich begrijpen, dat er heel wat moet gebeuren, voor daaruit de coli-bacteriën geheel verdreven zijn. Eene vermindering werd echter in de besproken gevallen wel bereikt, en éénmaal zelfs eene absolute steriliteit (konijn H).

Om nu de reeds gevonden uitwerking van de injectie

ties met coli-bacteriën duidelijker te maken werden maatregelen genomen om dien telkens herhaalden invoer van coli-bacteriën in den darm te stremmen. Natuurtijk was de fraaiste weg geweest den dieren niets dan steriel voedsel te verstrekken. Maar na eenig overleg werd daarvan afgezien. Konijnen vreten behalve het gereikte voedsel alles wat ze kunnen krijgen, en brengen al door knagen aan het hout van hun hokken telkens andere coli-bacteriën in hun darm. Wanneer die nu omgeven worden door eene massa gesteriliseerd voedsel, is toch de inwerking van den darm daarop weer verijdeld. Er zat dus niets anders op dan de dieren eenigen tijd zonder voedsel te laten.

VOORHOEVE (7) geeft op, dat bij hongerende konijnen de volgende veranderingen zich in den darm afspelen:

na 12 dagen zijn in den ganschen darm slechts coli-bacteriën en mikrokokken aanwezig,

na 14 dagen zijn de coli-bacteriën in de meerderheid,

na 16—18 dagen nemen de coli-bacteriën af en de mikrokokken toe en dit gaat zoo door tot er alleen mikrokokken overblijven.

De injecties met coli-bacteriën werden nu aldus geregeld, dat 10 dagen na de laatste injectie, wanneer dus de immuniteit voldoende hoog gestegen was, meteen de hongerperiode van 12 of 14 dagen achter den rug was.

Vele konijnen bleken tegen zoo ingrijpende veranderingen niet bestand. Ondanks dat dagelijks bij elk hongerend konijn ongeveer 200 cc physiologische zoutoplossing onder de huid werd ingespoten, succombeerden vele dieren onder sterke vermagering. In hoeverre hier weer de momenten reeds vroeger genoemd in het spel waren, valt niet te beslissen.

Behalve de teleurstellingen, die de dood van deze dieren veroorzaakte, kwam bij het darmonderzoek der overlevende nog eene andere desillusie voor. Verwacht werd, dat bij de sectie een ledige darm zou worden gevonden. De konijnen echter hadden uit honger hunne eigen faeces in groote massa's opgegeten; de maag was gevuld met eene groene massa, de darmen bevatten hier en daar dezelfde groene brij. Uitzaaïing van grootere quantiteiten dan gewoonlijk van uit de maag deed echter alras zien, dat dit de proeven niet waardeloos had gemaakt of althans behoefde te maken: er was uit de maag geen enkele coli-bacterie te kweeken. Toch werden, om alle gevaar in dat opzicht te voorkomen, en meteen om het onderzoek van den darminhoud, door die faeces-bijmenging bemoeilijkt, te vergemakkelijken, de volgende maatregelen getroffen. De dieren werden geplaatst in hokjes, die zóó smal en laag waren, dat zij zich er onmogelijk in konden omdraaien. Bovendien waren die zóó kort, dat zij ook niet vòòr- of achteruit konden. De vloer van de hokjes was gemaakt van gaas met mazen, die wijd genoeg waren om alle uitwerpselen direct buiten het hok te doen vallen. Daarmede waren alle onaangenaamheden boven vermeld voorkomen. En de uitkomsten, die het onderzoek van den darm bij deze dieren opleverde, beantwoordde aan de gestelde verwachtingen.

Konijn.	Agglutinatietiter.	Maag.	Duod.	Dund. 1.	Dund. 2.	Col.	Cœc.	App.	Rect.
C.	$\frac{1}{6400}$	0	6	4	4	0	15	0	3000
III ⁽²⁾	$\frac{1}{5000}$	0	0	0	0	0	0	0	0
B.	$\frac{1}{3200}$	0	0	0	0	2	0	0	0
D.	$\frac{1}{3200}$	0	0	0	0	1	1	0	0

Het groote aantal coli-bacteriën in het rectum van konijn C is waarschijnlijk te wijten aan eene toevallige infectie. De verdere resultaten zijn te sprekend om aan iets anders te gelooven. Dat eene dergelijke vermindering te wijten zou zijn aan het vasten, is niet goed mogelijk; BROTZU (16) vond bij zijne vastende honden steeds een vermeerderd aantal bacteriën.

De resultaten, die hier met de injecties van coli-bacteriën bereikt zijn, beteekenen dus eene nagenoeg totale darmsterilisatie ten opzichte van het bacterium coli commune. Eene dergelijke steriliseering is op andere wijze nog niet bereikt. Wel heeft men er met chemische middelen naar gestreefd, maar telkens weer is het mislukt, ja, vaak hadden de pogingen een volkomen tegenovergesteld resultaat. BROTZU (16) vermeldde eene vermindering der bacteriën als zoowel rectaal als per os onoplosbare antiseptica toegediend werden, zooals salol en benzonaphтол. Echter kon GILBERT (148) met deze beide stoffen geen verminderden groei in coli-cultures te weeg brengen. FEIGEN (4) vond na calomel-toediening aanvankelijk door de schoonvegende werking van de opgetreden diarrhee minder, maar spoedig als gevolg van de darmbeschadiging mèer bacteriën. SCHÖNENBORN (6) kwam tot dezelfde conclusie. Vele anderen hebben dezelfde ervaring opgedaan. De darmbacteriën zitten dus wel vast in den darm en alleen met eene specifieke behandeling zijn zij eruit te verwijderen.

Eene belangrijke vraag is nog: wat gebeurt er, als het vermogen van den darm, den groei der bacteriën binnen de perken te houden, wordt geschaad? De konijnen, die niet bestand bleken tegen de injecties met coli-bacteriën, leverden materiaal tot beantwoording van

deze vraag. Waaraan het lag, dat deze dieren de injecties niet konden verwerken, kan buiten bespreking blijven.

Hun serum kreeg nooit agglutineerende werking of wat daarvan ooit aanwezig geweest was, verdween spoedig. In enkele gevallen, waarin duidelijk te zien was, dat geen verbetering intrad in den algemeenen toestand, werden de dieren afgemaakt en op de gewone wijze onderzocht, de andere stierven hun eigen dood. Voorzooverre deze binnen enkele uren konden worden geseceerd, zijn zij in de hieronder volgende tabel opgenomen. SITTLER (149) acht de resultaten 3 uur na den dood verkregen nog eene vrij getrouwe afspiegeling van den toestand in vivo, er is volgens hem wel toename maar eene langzame en de verhoudingen blijven gelijk. DALLEMAGNE (63) vindt de eerste 36 uren na den dood kiemreductie in den darm, terwijl coli-bacteriën de andere verdringen. Een blik op de onderstaande tabel, waarin de eerste twee dieren zulke zijn, die werden afgemaakt en de laatste twee hun eigen dood stierven, doet wel zien dat het onderscheid gering is.

Konijn.	Agglutinatietiter.	Maag.	Duod.	Dund. 1.	Dund. 2.	Col.	Cœc.	App.	Rect.
V ⁽²⁾	0	0	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
VI ⁽²⁾	—	—	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
VII ⁽²⁾	—	0	0	∞	1700	800	1800	1700	2800
I ⁽²⁾	0	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞

In deze gevallen kon dus het organisme blijkbaar geen invloed meer oefenen op den bacteriegroei in

den darm. De coli-bacteriën hadden totaal vrij spel en vermeerderden zich op ontzaglijke wijze.

Om nu de bacterie-doodende kracht van een dier, dat goed was geïmmuniseerd, nog eens duidelijk in het licht te stellen, werd overgegaan tot de volgende definitieve proef. Een konijn, waarvan de agglutinatietiter tusschen 1 : 800 en 1 : 1600 lag en dat met zijne eigen coli-bacteriën was behandeld, werd opgespannen en genarcotiseerd. De buik werd steriel geopend en een dundarm (duodenum) naar buiten gebracht. Die darm werd aan de beide einden doorgeknipt en de continuïteit van den darm buiten die darm om hersteld met dunne zijden hechtingen. Daarop werden de beide einden van de darm tegen elkander gebracht en door hechtingen vereenigd, zoodat het geheel een gesloten ring vormde, nadat eerst eene hoeveelheid coli-bacteriën van ongeveer $\frac{1}{4}$ mgr. in de darm was gebracht. Alles werd daarna weer in de buikholte teruggebracht en de buikwand gesloten. Het dier kwam spoedig bij en gedroeg zich als een normaal dier gedurende 72 uren. Toen volgden acute symptomen, waarvan krampen de meest in het oog vallende waren en het dier overleed. De direct volgende sectie leverde niet veel op. De buikholte bevatte geen vrij vocht, over de hechtingen waren fibrine-stolsels aanwezig, de darm was overal normaal van kleur en goed doorgankelijk, ook de geïsoleerde darm. Hoewel bij dit dier geen pathologisch anatomische afwijkingen werden gevonden, die het recht geven hier met zekerheid de diagnose anaphylaxie te stellen, doet men toch het beste met aan te nemen, dat de dood hier is ingetreden door resorptie van vergiften, die in den darm of in den darmwand zijn ontstaan door de inwerking der antilichamen op de in-

gebrachte cultuur van coli-bacillen. Uit deze laatste werd nu op 2 plaatsen eene hoeveelheid van 2 mgr. genomen en dat werd verwreven in 10 cc physiologische zoutoplossing, waarvan dan weer 1 cc werd uitgezaaid in eene gelatine-plaat. Op deze plaat kwamen nu absoluut geen coli-bacteriën op, wél talrijke andere koloniën. Deze koloniën verschilden makroskopisch al van coli-koloniën en culturebuizen ermede geënt gaven totaal afwijkende resultaten van die, welke met coli-bacteriën worden verkregen. De darm was er dus in geslaagd de ingebrachte coli-bacteriën te doden.

Dergelijke lissen zijn bij normale dieren het eerst gemaakt door HERMANN (150), bij zijne bekende onderzoekingen over het ontstaan der faeces. Hij vond in zijne lissen, die bij honden werden aangelegd, altijd talrijke bacteriën, die hij niet nader heeft gedefinieerd. BERENSTEIN (151) heeft die proeven later herhaald en HERMANN's resultaten geheel bevestigd. Het isoleeren op zich zelf heeft dus wel geen beteekenis voor het verdwijnen der bacteriën en de boven beschreven proef is het zekerste bewijs, dat in den darm van een coli-immuun dier eene bactericide werking tegen die bacterie plaats vindt. Onderzoekingen naar de wijze, waarop zulks plaats vindt, zullen in het volgende hoofdstuk worden behandeld.

Hierboven is aangetoond, dat het serum der actief geimmuniseerde dieren bactericid werkt en daarbij is tevens gebleken, dat dit vermogen slechts betrekkelijk specifiek is. Het lag dus voor de hand met dergelijke sera eene passieve immunisering van een ander dier te beproeven en ook dan den darm op het gehalte aan coli-bacteriën te onderzoeken. Behalve het serum van de eigen proef-

dieren beschikten wij over een van paarden afkomstig coli-serum, ons door prof. POELS welwillend uit de Rijksseruminrichting te Rotterdam verstrekt. Het scheen gewenscht de bactericiëde kracht van dit serum voor coli-cultures van verschillende afkomst eerst eens in vitro na te gaan. Op de vroeger besproken wijze werden platen gegoten met enkele van de aanwezige coli-stammen. Tegenover alle stammen bleek eene duidelijke bactericiëde kracht aanwezig te zijn, al was dit vermogen niet in alle onderzochte gevallen even groot. Ook thans werd een konijn aan het vasten gezet, en wel zóó, dat 3 dagen na de injectie met het serum de termijn om was, waarop de coli-bacteriën normaliter in den darm de overhand hebben. Er werd in één keer 20 cc geïnjectieerd in eene oorvena, het dier verdroeg de injectie heel goed. Bij de sectie werd op de gewone wijze uit den darm geënt en de resultaten waren niet twijfelachtig. Vóór de injectie agglutineerde het serum de eigen coli-bacteriën nog niet bij eene verdunning van 1 op 20; 3 dagen na de injectie was dit geworden 1 op 1500. De gelatine-platen bewezen, dat het aantal coli-bacteriën enorm was afgenomen, maag, dundarm en appendix bleken geen coli-bacteriën meer te bevatten, in het duodenum en het coecum werden per mgr. 5 coli-bacteriën aangetroffen.

Dezelfde proef werd nog eens herhaald op volkomen dezelfde wijze, alleen werd in plaats van het serum ons door prof. POELS afgestaan, het serum aangewend van een der eigen proefkonijnen afkomstig.

De resultaten waren de eerste maal niet zoo schitterend als in het vorige geval. Ook hier klom wel het agglutineerend vermogen van het serum in belangrijke

mate, maar uit den darm waren nog vele coli-bacteriën te kweken. De maag, het duodenum, en de geheele dundarm bleken steriel te zijn, maar in het colon kwamen per mgr. 65, in het coecum 1360, en in den appendix 1680 coli-bacteriën voor. Het effect van de injectie was dus niet meer dan twijfelachtig, al is het wel opvallend, dat weer de dundarm steriel bevonden werd. Beter waren weer de resultaten met de volgende konijnen bereikt. Deze dieren hadden geen periode van vasten doorgemaakt; het element van toevallig in den darm aanwezige coli-bacteriën was hier dus niet buitengesloten.

Het eene dier kreeg eene injectie van 13 cc serum van konijn III, met een agglutinatie-titer van 1:3200. De entingen uit den darm, drie dagen later ondernomen, leverden het volgende resultaat. In duodenum, dundarm en coecum waren geen coli-bacteriën meer aanwezig, het coecum had er 160 per mgr.

Ten slotte moet nog het laatste passief geïmmuniseerde konijn besproken worden. Dit dier, dat met 15 cc serum van konijn IV met een agglutinatie-titer van 1:6400 was ingespoten, werd eveneens na drie dagen gedood en op coli-bacteriën onderzocht. Hier bleken duodenum en colon geen coli-bacteriën meer te bevatten. Op 1 mgr. darminhoud kwamen in dundarm en coecum telkens 5 coli-koloniën voor.

De proefnemingen, ofschoon gering in aantal, leveren wel het bewijs op, dat ook met passieve immunisering invloed kan worden geoefend op coli-bacteriën in den darm.

De resultaten van dit hoofdstuk laten zich als volgt samenvatten:

Immunisatie tegen het bacterium coli commune langs actieven weg kan bij konijnen ten gevolge hebben, dat de coli-bacteriën uit den darm verdwijnen.

Immunisatie langs passieven weg kan bij konijnen dezelfde uitwerking hebben, maar de sterilisatie is gewoonlijk minder volkomen.

De individueele coli-stammen zijn bij konijnen in dit opzicht niet specifiek; of geïmmuniseerd wordt met een vreemden of met den eigen stam maakt geen verschil.

Bij konijnen, waar om onbekende redenen de injecties geen immuniteit doen ontstaan, nemen de coli-bacteriën in den darm op ontzaglijke wijze toe.

HOOFDSTUK III.

In dit hoofdstuk zullen de pogingen besproken worden, die in het werk zijn gesteld om een beter inzicht te krijgen in de wijze, waarop een organisme, dat tegen bacterium coli commune geïmmuniseerd wordt, zich van de coli-bacteriën in den darm ontdoet. Wij mogen veilig aannemen, dat wij hier te doen hebben met bactericide, misschien bacteriolytische antilichamen, die zich in het lichaam ontwikkeld hebben ten gevolge van de injecties. Immers deze stoffen zijn dan zonder eenigen twijfel in het bloedserum in verhoogde mate aan te toonen — in verhoogde mate, want ook normaliter komen ze erin voor — en het ligt dus het meest voor de hand om aan te nemen, dat het ook deze stoffen zijn, die op de bacteriën in den darm inwerken. Mogelijk blijft natuurlijk, dat wij hier met een nieuw antilichaam, speciaal voorkomend in darmepitheelcellen en bestemd den groei der coli-bacteriën tegen te gaan, hebben te doen, maar waarschijnlijk mag dit zelfs niet genoemd worden. De proeven met passieve immuniteit, in ons vorig hoofdstuk medegedeeld, leerden, dat met het serum ook de inwerking op de darmflora werd overgebracht van het eene dier op het andere; dit nu zou toch niet mogelijk zijn, wanneer wij hier de werking op de darmbacteriën hadden toe te schrijven aan eene stof of eene eigenschap,

huizende alleen in de darmepitheelcellen, terwijl daarnaast het serum zijne antilichamen van de gewone soort bevatte. Veel begrijpelijker en eenvoudiger wordt, althans op het eerste gezicht, de gang van zaken, als wij ons voorstellen, dat alle nieuwe eigenschappen, die een dier door immuniseering verkregen heeft, verklaard kunnen worden uit het in zijne weefselvochten aanwezig zijn van de ons bekende antilichamen. Wij hebben ons dan nog slechts bezig te houden met de vragen: waar worden deze stoffen gevormd, en hoe komen zij in het darmlumen?

Van de bekende antilichamen: bactericidinen, bacteriolysinen, agglutinen en, als men wil, opsoninen vallen de laatste beide voor ons natuurlijk geheel weg. Eene agglutinatatie van coli-bacteriën in den darm zal slechts weinig tot hun verdwijnen kunnen bijdragen; en ook eene drenking met opsoninen zal, aangezien toch geen phagocyten in voldoende aantal zich in den darm zullen wagen, niet heel veel effect hebben. Anders met de eerste beide lichamen. Het dooden der coli-bacteriën in den darm en evenzoo het geheel oplossen der bacterie-lijven is natuurlijk de kortste manier om het aantal te verminderen. Dat hiervoor ook nog complement aanwezig moet zijn, is geen bezwaar. Er is aangetoond, dat complement niet schroomt in het darmlumen uit te treden. Zoo konden ROLLY en LIEBERMEISTER (51) bacteriën, die zij in afgebonden darmlissen brachten, zien doorgroeien, wanneer zij die lissen in RINGER's vloeistof bewaarden, maar de bacteriën stierven af of werden in hun groei geremd, wanneer de lissen in de buikholte werden gebracht.

Gaan wij nu allereerst na, of het mogelijk is de vormingsplaats van onze antilichamen op te sporen. Wij

zouden die allereerst op de injectie-plaats zoeken, wanneer wij niet intraveneus hadden ingespoten.

Gaan wij dan na, waar toch de meeste bacteriën gebleven zijn na de injectie en welke plaats dus met eene injectie-plaats gelijk te stellen is, dan wijzen ons verschillende experimentatoren op den darm. In het vorige hoofdstuk heb ik deze onderzoekers reeds genoemd.

Redelijkerwijze kon dus verwacht worden, dat in de darmwandcellen een hoog gehalte antilichamen zou kunnen worden aangetroffen. Meteen zou dan begrijpelijk zijn geworden, dat de darmbacteriën direct door eene immunisatie met bacterium coli commune getroffen werden. Hare aanwezigheid vlak bij de vormingsplaats der voor haar verderfelijke stoffen zou haar dan dadelijk aan de schadelijke inwerking bloot stellen.

Het leek dus raadzaam om eens na te gaan, of de verhoudingen werkelijk zoo waren. Intusschen deden zich bij het verder bearbeiten van deze vraag al dadelijk groote moeilijkheden voor. Er zijn talrijke proeven gedaan, waaruit bleek, dat antilichamen in sterkere concentratie dan in het bloed, aanwezig waren in beenmerg, in milt of andere organen. De techniek bestond dan gewoonlijk hierin, dat die organen werden fijn gewreven en uitgetrokken, met het extract werden dan de proeven genomen. Het heele proces moest en kon natuurlijk steriel geschieden.

Geheel anders wordt dit, wanneer de darm het orgaan wordt, dat aldus behandeld moet worden. Den darm fijn te wrijven en uit te trekken, zóódat de vloeistof steriel blijft, is natuurlijk door de immer aanwezige bacteriën onmogelijk. De coli-bacteriën mogen al grootendeels verdwenen zijn, of ten minste dood; hare lijven

blijven hunne inwerking op de proef behouden, één enkele levend achtergeblevene vermeerderd zich bovendien snel — en wat andere eventueel aanwezige bacteriën wel tot het slagen van de genomen proeven zullen afdoen, laat zich geheel niet nagaan.

In het begin werd daarom op de volgende wijze te werk gegaan. Er werd een zoo lang mogelijk stuk darm uit het dier genomen en langs de mesenteriale aanhechting opgeknippt. Het oppervlak van de mucosa werd dan goed schoongespoeld en afgewischt. Vervolgens werd het slijmvlies afgekrabd en verzameld in physiologische zoutoplossing en daar langdurig mee geschud. Dadelijk daarna werd de troebele massa gefiltreerd door een Liliputfilter van infusoriënnaarde, dat eerst op kiemdichtheid, zoowel voor aëroben, als anaëroben herhaalde malen was gecontroleerd. Het heldere filtraat werd nu verder onderzocht op bactericidie, en op agglutinatie. De bactericidie werd nagegaan door hoeveelheden van deze vloeistof in afnemende hoeveelheden samen te brengen met steeds dezelfde geringe quantiteit coli-bacteriën, aan welke mengsels dan nog eene kleine quantiteit cavia-complement werd toegevoegd. Hadden deze mengsels eenige uren bij 37° gestaan, dan werden er gelatine-platen van gegoten, en na 48 uur werden de opgekomen coli-koloniën geteld.

De eerste proeven op deze wijze werden genomen met darmepitheel van normale konijnen. Ook daarin mocht toch de aanwezigheid van eenige bactericide stof worden aangenomen. Het resultaat was echter juist omgekeerd als verwacht werd; de bacteriën, die met de grootste hoeveelheden van de vloeistof waren samengebracht, waren het hardst gegroeid; hare

platen vertoonden de meeste koloniën. Wel verre van dus den groei te remmen, bleek het extract te werken als uitstekende voedingsbodem.

De proeven werden nu met slijmvliezen van hoog geimmuniseerde dieren herhaald, in de veronderstelling daar althans eenig bactericied vermogen te vinden. Niettegenstaande het extract zoo geconcentreerd mogelijk werd gemaakt, liepen de proeven ook hier op dezelfde resultaten uit als de voorafgaande: het extract bleek eene bijzonder goede cultuurvloeistof. De proeven sloten zich dus op geheel ongezochte wijze aan bij die van COHENDY (152), die aanraadt om, wanneer men een bijzonder goeden voedingsbodem wil hebben voor obligate en facultatieve anaëroben, een bouillon te bereiden uit den darm.

In dit verband dient ook WOLLMANN (153) genoemd te worden, die uitgaande van het feit dat bacillus pyocyaneus en vibrio METCHNIKOFF in den darm gebracht, daarin te gronde gaan, uit den darm eene bactericiede stof voor die microben trachtte te winnen, echter zonder resultaat.

Konden dus in darmextracten op deze wijze bereid geen bactericiede stoffen gevonden worden, een onderzoek op agglutinen had hetzelfde negatieve resultaat — geen coli-stam was met deze vloeistoffen tot agglutineren te brengen.

Tegen al deze proeven was als belangrijk bezwaar in te brengen het filtratieproces. De antilichamen zouden in het filter kunnen zijn achtergebleven — al bleek ook de vloeistof, die doorliep, eiwitreacties te geven, de aanwezigheid van de immuunlichamen was daarmede niet aangetoond. Besloten werd dus een anderen weg in

te slaan. Werd in de vorige proeven het extract op eenigszins ruwe wijze bereid, voortaan werd bij het uittrekken van de darmcellen de gelegenheid gebruikt, die de natuur zelve aangaf, nl het bloedvatstelsel. Bij een hoog geïmmuniseerd konijn werd het bloed op de gewone wijze uit de arteria carotis steriel afgetapt. Vervolgens werd de borstkas geopend en de aorta opgezocht. Vlak boven het diaphragma werd daar eene canule ingebonden, terwijl het gedeelte daarboven en ook de arteriae diaphragmaticae werden afgeklemd. De canule voerde met eene slang naar een irrigator, gevuld met steriele physiologische zoutoplossing. Daarop werd evenzeer op steriele wijze in de geopende buikholte eene canule met afvoerslang in de vena portae gebracht en meteen de aorta abdominalis zoo hoog mogelijk afgeknepen. Werd nu de irrigator opgeheven, dan vloeide het zoute water door de darmvaten, dreef het bloed voor zich uit en kwam tenslotte door de vena portae naar buiten. Zoodra het afvoerbuisje heldere vloeistof ging bevatten, werd het afgesloten en de irrigator hield op met loopen. Alleen op een enkel plekje van de geopende borst en buikwand vertoonde zich een straaltje water, waarop dadelijk een klempincet gezet werd. Vervolgens werd een kwartier gewacht. Daarna werd het afvoerbuisje weer geopend en de eerste 4 kubieke centimeters, die nu naar buiten kwamen werden apart opgevangen, de volgende 4 evenzoo, en dat werd 3 maal herhaald. Ook al waren niet alle arterieele lekken gesloten, toch bestond de zekerheid, dat de vloeistof, die uit de vena portae kwam, langer of korter in de darmvaten had vertoefd en door de capillairen heen den darm had doorspoeld. Met de op deze wijze ver-

kregen vloeistof werden dan weer proeven gedaan. Eerst werd de steriliteit, door overgieten van eene kleine hoeveelheid in bouillon, gecontroleerd. Daarna werden op de boven beschreven wijze proeven gedaan op bacterieel vermogen. De resultaten waren even teleurstellend als tevoren, er volgde steeds meer groei naarmate er meer van het vocht aanwezig was. Ook dit vocht gaf eiwitreacties. Agglutinatie kon ook hier met geen enkelen coli-stam verkregen worden. De proeven werden driemaal genomen, steeds met hetzelfde negatieve effect. Geen spoor van een antilichaam werd ooit gevonden.

Hoewel door onze proeven niets vaststaands is gevonden, toch kan er eenige beteekenis niet aan worden ontzegd. Zij geven het recht tot de volgende gevolgtrekking. Of de antilichamen worden niet door de darmcellen bereid, of zij zijn er door de door ons gevolgde methode niet aan te onttrekken. Waar de cellen van den tractus intestinalis fermentvormers bij uitnemendheid zijn, dient deze mogelijkheid niet uit het oog te worden verloren. Men dient de antilichamen dan op te vatten als zoogenaamde sessiele receptoren. Hoewel de tijd ontbrak om het onderzoek in deze richting voort te zetten, zij hier toch den weg voor verder onderzoek aangegeven. Secretie van sessiele receptoren door de hen produceerende cellen, bereikt men het beste door het betrekkelijke antigeen in zeer geringe dosis, eene zoogenaamde prikkeldosis in te voeren. Alvorens te besluiten tot het niet produceeren van antilichamen door de darmcellen, hadden wij bij geïmmuniseerde dieren eerst eene geringe hoeveelheid coli-vaccin dienen in te brengen om daarna verder als boven aangegeven te werk te gaan. Geeft

een dergelijk onderzoek negatieve resultaten, eerst dan wordt het waarschijnlijk, dat de darmcellen geen reactieve antilichamen produceeren.

Er bleef dus, gegeven het bovenstaande, niet anders over dan aan te nemen, dat het organisme zijn antibacterieele lichamen elders maakt en die dan in den darm uitscheidt. Dat zulks bij passieve immunisatie geschiedt, ligt voor de hand. Wij weten, dat het organisme zoogenaamd vreemd eiwit langs den darmweg verwijderd en dat dan de antilichamen meegaan, is begrijpelijk.

Pogingen werden dus nu in het werk gesteld om die lichamen in het darmlumen terug te vinden.

Aanvankelijk werd hier de weg gevolgd, dat bij het verbloede al of niet immune dier eene hoeveelheid van 10 cc physiologische zoutoplossing boven in den door hongeren vrij leegen darm werd gebracht en, door wrijven en kneden met het geheele oppervlak in aanraking gebracht, allengs naar beneden werd voortgedreven, om dan onderaan weer te worden uitgelaten en te worden gefiltreerd. Met het aldus verkregen filtraat werden de gewone proeven verricht, die ook hier weer, in plaats van een bactericied vermogen aan te toonen, niets anders opleverden, dan dat eene bijzonder goede cultuurvloeistof was bereid. Zelfs van remming van groei, al was het maar door eigen producten der darmbacteriën, was geen sprake, laat staan van bactericidie. Trouwens, dat coli-bacteriën geen of weinig producten geven, die haar eigen groei belemmeren, was al wel aangetoond door PASSINI (154), en ROLLY (155) vond in dik darmsap geen groeiremmende werking. EYKMANN (56) vond, dat voedingbodems met coli-bacteriën wel andere bacteriën, maar niet de eigen bacteriën in groei remmen. Op onze

proeven valt ook weer aan te merken, dat de filtratie een factor is, welks invloed niet te bepalen was. Om dit te ontgaan werden de proeven gevariëerd. Er werden twee stukken dundarm genomen van gelijke lengte. Bij een hongerkonijn waren stukken van twee of drie decimeters nagenoeg zonder inhoud gemakkelijk te vinden. Het lumen van beide stukken werd, nadat het dier gedood was, doorgespoeld met 10 cc physiologische zoutoplossing, op de wijze als boven beschreven is. Vervolgens werd bij eene der beide vloeistoffen, maar nu zonder filtratie, eene kleine quantiteit coli-bacteriën gevoegd, en nadat voldoende tijd tot inwerking gegeven was, werden met beide vloeistoffen platen gegoten. Natuurlijk werd ook hier cavia-complement toegevoegd. In welke verdunning nu ook eene plaat gegoten werd, altijd bevatte de vloeistof, die nog met coli-bacteriën voorzien was, meer coli-bacteriën dan de andere.

Het aantoonen van antilichamen in het lumen van den darm is dus evenmin geslaagd als in de cellen van den darmwand. Ook bij normale, niet voorbehandelde dieren is het niet mogelijk in het darmlumen iets van eene antibacteriële stof ten minste tegenover coli-bacillen te vinden. Zooals bekend staat de bactericide werking van den inhoud van den darm tegenover andere microben vast.

Alle onderzoekers zijn het hierover eens. KOHLBRUGGE (50), die het sterkst aan de „autosterilisatie van den darm” gelooft, moet toegeven, dat het darmsap in den hangenden druppel niet de minste remmende werking op darmbacteriën uitoefent. Wanneer men voedingsbodems mengt met stoffen, die in den normalen darm voorkomen, vindt men altijd, dat de coli-bacteriën goed of zelfs beter dan

zonder die toevoeging groeien. VOORHOEVE (7) beproefde het met ossengal, met sap van hondenpancreas, en met pancreatine-praeparaten uit den handel: de coli-bacteriën groeiden er nog harder op dan anders. PADOA (156) vond, dat 20 % gal bij voedingsbodems gevoegd in den aanvang wel het gift der er op groeiende coli-bacteriën neutraliseert, maar dat zij er later giftiger op worden, omdat de culture-voorwaarden zoo gunstig zijn.

De vermindering in virulentie, die VETRANO (157) bij coli-bacteriën, op 4 % gal-agar-bodems gekweekt, opmerkte, moet wel worden opgevat als het resultaat van die aanvankelijke giftneutralisatie. Ook ROLLY en LIEBERMEISTER (51) achten gal, pancreassap en darmsap goede voedingsbodems. MACFADYEN (158) en HOROWITZ (74) zijn van dezelfde meening. LEUBUSCHER (159) liet coli-bacteriën in sterielen succus entericus groeien en vond na eene aanvankelijke verminderde groeisnelheid, die wel aan acclimatiseering te wijten is, een versterkten groei.

Het is ons dus onmogelijk gebleken de bactericide stoffen, waarvan wij de werking toch onmiskenbaar geconstateerd hebben, in den darm aan te toonen. Toch moeten zij in den darm aanwezig zijn. Er moet dus eene verklaring worden gezocht, waarom zulks niet gaat.

Die verklaring ligt voor de hand. Wanneer men zich de verhoudingen goed voorstelt, komen er twee momenten dadelijk naar voren, die het verdwijnen van antilichamen in den darm tengevolge moeten hebben.

In de eerste plaats zal, gegeven de specificiteit der antilichamen, alles wat daarvan in den darm wordt uitgescheiden, direct aan bacteriën gebonden kunnen worden. Bedacht moet hierbij worden, dat ook doode bacterielijven wel degelijk nog in aanmerking komen

om de antilichamen vast te houden. Eéne tegenwerping is mogelijk. Wanneer er zóóveel antilichamen worden gevormd, is het toch niet waarschijnlijk, dat dat alles op deze wijze wordt vastgelegd. Zoodra de affiniteiten der bacteriën alle verzadigd zijn, doordat er eene overmaat van antilichamen over is uitgestort, moet er toch een gedeelte over blijven.

Hiertegen is het tweede moment aan te voeren. De darmfermenten kennen natuurlijk geen onderscheid, maar grijpen alles aan, wat zich aan hen voordoet. Ook de antilichamen worden dus door hen afgebroken. Het is onmogelijk gebleken een dier door middel van den darm, althans van de hoogere gedeelten uit, want per rectum gaat dat wél, immuniteitsstoffen toe te voeren. Zoo vond STÄUBLI (160), om één voorbeeld te noemen, dat een jonge cavia die met moedermelk gevoed werd, geen spoor van agglutininen in zijn bloed kreeg, ofschoon de moedermelk nog agglutineerend vermogen had bij eene verdunning van 1 op 12800. En de fermenten van een dergelijk jong individu zijn zeker nog niet zoo compleet als van een volwassen dier.

Als eindresultaat van de in dit hoofdstuk besproken onderzoekingen mag worden vastgesteld:

Het gelukt door middel van eenvoudige doorspoeling van den darmwand niet aan de cellen van zijn weefsel bactericide antilichamen te onttrekken; en verder vrije naar het lumen toe gesecerneerde antilichamen gaan onder den invloed der darmfermentatie hier snel te gronde.

LITERATUUR.

1. Neisser en Wechsberg. Münch. Med. Woch. 1901.
2. Poels. Bericht van het Rijksseruminstituut 1907.
3. Duysens. Dissert. Bern. 1910.
4. Feigen. Inaug. Dissert. Bonn. 1908. Ref. Centralbl. f. Bakt. Bd. 43.
5. Booker. Centralbl. f. Bakt. Bd. 5.
6. Schönenborn. Inaug. Diss. Bonn. 1903. Ref. Baumgarten's Jahresber. 1903.
7. Voorhoeve. Dissert. Leiden. 1910.
8. Finizio. La Pediatria. 6. Ref. Baumgarten's Jahresber. 1903.
9. Giurrana. La clin. mod. Anno 8. Ref. Baumgarten's Jahresber. 1902.
10. Bienstock. Ztschrft f. klin. Med. Bd. 8.
11. Matzuschita. Arch. f. Hyg. Bd. 41.
12. Mannaberg. Nothnagel's spez. Path. u. Ther. Bd. 17. 1903.
13. Duclaux. Compt. rend. d. l. Soc. biol. T. 94.
14. Sartory en Mahen. Compt. rend. d. l. Soc. biol. T. 66.
15. Belonowsky. Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. 44.
16. Brotzu. Centralbl. f. Bakt. Bd. 17.
17. Hammerl. Ztschrft f. Biol. Bd. 35.
18. Moore en Wright. Centralbl. f. Bakt. Ref. Bd. 31.
19. Hüttemann Baumgarten's Jahresber. 1905.

20. Ankersmit. Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. 39.
21. Heinick. Baumgarten's Jahresber. 1903.
22. Rahner. Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. 30.
23. Joest. Baumgarten's Jahresber. 1902.
24. Hopffe. Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. 58.
25. Houston. Rep. med. Off. Loc. Gov. London. 1904.
26. Torrey. Journ. of infect. diseases. Bd. 10. Ref. Centralbl. f. Bakt. Bd. 53.
27. Nicoll. Journ. of Hygiene. V. 11.
28. Cushing en Livinggood. John Hopkin's Hospital Reports. V. 9.
29. Levin. Ann. de l'Inst Pasteur. 1899.
30. Cheauveau. Arch. f. Hyg. Bd. 39.
31. Racovitza en Cantacuzere. Expéd. Antarct. Belge. Anvers. 1906. Gecit. Schottelius. Arch. f. Hyg. Bd. 67.
32. Charcot. Bullet. d. l. Soc de Géogr. 1905.
33. Barber. Journ. of infect. Diseases. 5. Ref. Centralbl. f. Bakt. Bd. 43.
34. Gilbert en Choquet. Compt. rend. d. l. Soc. biol. T. 55.
35. Fermi. Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. 18.
36. Schild. Ztschrft f. Hyg. Bd. 19.
37. Tissier. Ann. de l'Inst. Pasteur. 1905.
38. Sittler. Centralbl. f. Bakt. Bd. 47.
39. Hellström. Baumgarten's Jahresber. 1903.
40. Moro. Jahrb. f. Kinderheilk. Bd. 61.
41. Escherich. Die Darmbakterien des Säuglings. Stuttgart. 1886.
42. Klein. Versl. Kon. Acad. Wis- en Natuurk. Afd. 1902.
43. Eberle. Centralbl. f. Bakt. Bd. 19.
44. Mac Neal, Ward, Latzer en Kerr. Journ. of infect. diseases. 6. Ref. Centralbl. f. Bakt. Bd. 47.

45. Strassburger. Ztschrft f. klin. Med. Bd. 46.
46. Friedenwaldt en Leitz. Amer. Journ. of the med. sciences. 1909.
47. Sato. Ztschrft f. exper. Pathol. u. Ther. Bd. 7.
48. Kohlbrugge. Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. 29.
49. Kohlbrugge. Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. 30.
50. Kohlbrugge. Feestbundel Dr. Sape Talma. 1901.
51. Rolly en Liebermeister. D. Arch. f. klin. Med. Bd. 83.
52. Klein. Versl. Kon. Acad. Wis- en Natuurk. Afd. 1902.
53. Klein. Verh. Ges. D. Naturf. Leipz. 1902.
54. Klein. Arch. f. Hyg. Bd. 45.
55. Jundell. Arch. f. klin. Chir. Bd. 73.
56. Eykman. Ned. T. v. Gen. 1903.
57. Ciechomski en Jakowski. Arch. f. klin. Chir. Bd. 48.
58. Tissier. Ann. de l'Inst. Pasteur. 1908.
59. Hirokawa. Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. 53.
60. Hartmann. D. Ztschrft f. Chir. Bd. 68.
61. Lippmann. Thèse de Paris. 1904. Ref. Baumgarten's Jahresber. 1904.
62. Bisanti. Bullet. de méd. vétér. Ref. Baumgarten's Jahresber. 1904.
63. Dallemagne. Arch. de méd. expér. 1895. Ref. Baumgarten's Jahresber. 1895.
64. Kolle en Hetsch. Die exper. Bakt. und die Infekt. krankh. 1911.
65. Schottelius. Arch. f. Hyg. Bd. 34.
66. Schottelius. Verh. Ges. D. Naturf. Leipz. 1901.
67. Schottelius. Arch. f. Hyg. Bd. 67.
68. Schottelius. Arch. f. Hyg. Bd. 42.
69. Mme Metchnikoff. Ann de l'Inst. Pasteur. 1901.
70. Nutall en Thierfelder. Ztschrft f. Phys. Chemie Bd. 21.
71. Moro. Jahrb. f. Kinderheilk. Bd. 62.

72. Tissier. Compt. rend. d. l. Soc. biol. T. 60.
73. Strassburger. Münch. med. Woch. Bd. 50.
74. Horowitz. Ztschrft f. Phys. Chemie. Bd. 52.
75. Weiss. Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. 36.
76. Moro en Murath. Wien. klin. Woch. 1906.
77. Schmidt. Schweiz. Woch. f. Chem. u. Pharm. 49.
Ref. Centralbl. f. Bakt. Bd. 49.
78. Bockenheimer. Arch. f. klin. Chir. Bd. 83.
79. Konrad. Arch. f. Gynaek Bd. 86.
80. Dreyer en Walker. Brit. med. Journ. 1909.
81. Fichera. Riforma medica. 1911. Ref. Centralbl. f.
Bakt. Bd. 50.
82. de Haan. Geneesk. Tijdschr. v. Nederl. Ind. 1908.
83. Mayer. Ztschrft f. klin. Med. Bd. 64.
84. Pfaundler. Kolle u. Wassermann. Handb. d. pathog.
Mikroörg.
85. Rogozinsky. Gecit. bij Klein. Geneesk. Blad. 1903.
86. Arbeiter. Virch. Arch. Bd. 20.
87. Opitz. Ztschrft f. Hyg. Bd. 29.
88. Müller. Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. 56.
89. Klimenko. Ztschrft f. Hyg. Bd. 48.
90. Horn. Ztschrft f. Inf. Krankh. d. Haust. Bd. 8.
91. Bierotte en Machida. Münch. med. Woch. 1910.
92. Ficker. Arch. f. Hyg. Bd. 52.
93. Desoubry en Porcher. Compt. rend. d.l. Soc. biol. 1895.
94. Conradi. Baumgarten's Jahresber. 1895.
95. Holle. Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. 44.
96. Uffenheimer. Münch. med. Woch. Bd. 54.
97. Ravenel, Mazyck en Hammer. Journ. of med. re-
search. 1911. Ref. Centralbl. f. Bakt. Bd. 51.
98. Mannelli. Lo sperimentale. Ref. Centralbl. f. Bakt.
Bd. 41.

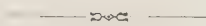
99. Bachrach en Stein. Wien. klin. Woch. 1907.
100. Dieterlen. Beitrag zur Frage der Inf. wege. Ref. Centralbl. f. Bakt. Bd. 43.
101. Hess. Journ. of med. research. 22. Ref. Centralbl. f. Bakt. Bd. 47.
102. Müller. Ztschrift f. Fleisch u. Milkhyg. 22. Ref. Centralbl. f. Bakt. Bd. 42.
103. Franke. Mitteil. a. d. Grenzgeb. d. Med. u. Chir. Bd. 22.
104. Hilgermann. Arch. f. Hyg. Bd. 44.
105. Schott. Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. 29.
106. Oker Blom. Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. 15
107. Brieger. D. med. Woch. Bd. 28.
108. Carega. Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. 34.
109. Metchnikoff. Ann. de l'Inst. Pasteur. T. 24.
110. Distaso. Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. 62.
111. Rothberger. Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. 24.
112. Rosenberger. Gecit. bij Voorhoeve. Dissert. Leiden.
113. Burk. Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. 45.
114. Smith. Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. 25.
115. Moore en Wright. Amer. med. 1912. Ref. Baumgarten's Jahresber. 1902.
116. Arima. Arch. f. Hyg. Bd. 73.
117. Smith en Tennant. Brit. med. Journ. 1902.
118. Richet. Compt. rend. d. l. Soc. biol. T. 71.
119. Breton, Bruyant en Mézie. Compt. rend. d. l. Soc. biol. T. 71.
120. Spampinato. Ann. ig. Roma. 13. Ref. Baumgarten's Jahresber. 1903.
121. Oppenheim. Compt. rend. d. l. Soc. biol. T. 53.
122. Roux en Yersin. Ann. de l'Inst. Pasteur. 1889.
123. Charrin en Langlois. Compt. rend. d.l. Soc. biol. 1893.
124. Roger. Compt. rend. d. l. Soc. biol. 1894.

125. Porcile. Ztschrft f. Hyg. u. Inf. krankh. Bd. 50.
126. Nicolle en Thenel. Ann. de l'Inst. Pasteur. T. 16.
127. Defalle. Ann. de l'Inst. Pasteur. T. 16.
128. Müller. Münch. med. Woch. 1903.
129. Deutsch. Ann. de l'Inst. Past. T. 13.
130. Gruber en Durham. Münch. med. Woch. 1896.
131. Castellani. Ztschrft f. Hyg. Bd. 37.
132. Dubois. Ann. de l'Inst. Pasteur. T. 16.
133. Rath. Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. 25.
134. Amiradzibi. Ztschrft f. Imm. f. Bd. 6.
135. Kraus en Amiradzibi. Ztschrft f. Imm. f. Bd. 4.
136. Bettencourt en Borges. Arch. do. real. Inst. bact.
Camara Pestana. II. Ref. Centralbl f. Bakt. Bd. 44.
137. Ferreira, Horta en Paredes. Arch. do. real. Inst.
bact. Camara Pestana. II. Ref. Centralbl f. Bd. 44.
138. Holobut. Ztschrft f. Imm. f. Bd. 3.
139. Kreisel. Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. 29.
140. Smith Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. 25.
141. Cany. Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. 32.
142. Totsuka. Ztschrft f. Hyg. Bd. 45.
143. Jehle en Pincherle. Wien. klin. Woch. 1910.
144. Blumenthal. D. Arch. f. klin. Med. 1907.
145. Seiffert. D. med. Woch. 1911.
146. Cohn. Ztschrft f. Hyg. u. Inf. krankh. Bd. 45.
147. Klein. Arch. f. Hyg. München. Bd. 45.
148. Gilbert. Compt. rend. d. l. Soc. biol. T. 55.
149. Sittler. Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. 47.
150. Hermann. Pflüger's Arch. Bd. 46.
151. Berenstein. Pflüger's Arch. Bd. 53.
152. Cohendy. Compt. rend. d. l. Soc. biol. T. 63.
153. Wollmann. Ann. de l'Inst. Pasteur. T. 24.
154. Passini. Wien. klin. Woch. 1906.

155. Rolly. D. med. Woch. 1906.
 156. Padoa. Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. 52.
 157. Vetrano. Riv. crit. di Clin. medic. 9. Ref. Centralbl.
f. Bakt. Bd. 48.
 158. Macfadyen. Journ. of Anat. a. Phys. V. 21.
 159. Leubuscher. Ztschrift f. klin. Med. Bd. 17.
 160. Stäubli. Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. 33.
-

STELLINGEN.

STELLINGEN.



I.

Antilichamen worden ook door den darm uitgescheiden.

II.

Er bestaat een individueele coli-stam.

III.

Bij agglutinatie-reacties is de agglutinabiliteit van de bacterie van meer belang dan de agglutineerende kracht van het serum.

IV.

Voor operaties aan de bovenste extremiteit verdient de anaesthesie volgens de methode van Kulenkampff uitgebreide toepassing.

V.

Pituitrine mag niet gegeven worden om in gevallen waar atonie te wachten staat, die te voorkomen.

VI.

Het vinden van indican in de urine van lijders aan iridocyclitis van onbekenden aard geeft geen aanwijzing omtrent de aetiologie.

VII.

Indien men de conjunctivitis gonorrhoeica adultorum thermisch wil beïnvloeden, geven men de voorkeur aan de diathermie, boven Goldzieher's methode.

VIII.

Vele der zoogenaamde Grawitz'sche gezwellen in de nier zijn geen hypernephromen doch endotheliomen.

IX.

Idiosyncrasie kan gedeeltelijk als anaphylaxie verklaard worden.

X.

De simultaanmethode heeft theoretisch voordeelen boven de actieve immunisatie.

XI.

Voorhoofdskwabtumoren hebben geen karakteristieke symptomen.

XII.

Als voedingsclysma verdienen mengels van aminozuren aanbeveling.

